

N° d'ordre :

UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU

UNITE de FORMATION et de
RECHERCHE en SCIENCES de la
VIE et de la TERRE



LABORATOIRE de BIOLOGIE et
PHYSIOLOGIE ANIMALES

THESE

Présentée
pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Ouagadougou
Spécialité Sciences Biologiques Appliquées
Option : Parasitologie

Par

Hermann SORGHO

Sur le thème :

**Profil parasitologique de la schistosomiase et
sérodiagnostic de la schistosomiase intestinale dans deux
hydro-aménagements à l'Ouest du Burkina Faso.**

Soutenue le **19 Avril 2006**, devant la commission d'examen :

Président :

M. Laya L. SAWADOGO

Professeur, Université de Ouagadougou

Membres :

M. Robert T. GUIGUEMDE

Professeur, Université de Ouagadougou

M. Jean Bosco OUEDRAOGO

Directeur de Recherche, IRSS-CNRST, Bobo-Dioulasso

M. Jean-Noël PODA

Maître de Recherche, IRSS-CNRST, Ouagadougou

M. Gustave B. KABRE

Maître de Conférence, Université de Ouagadougou

A ma très chère mère

A la mémoire de mon père

A mes frères et sœurs

A tous les miens

Remerciements

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie et Physiologie Animales de l'UFR - SVT de l'Université de Ouagadougou. Les travaux de recherche présentés ont bénéficié du soutien des institutions suivantes : Département Biomédicale/Santé Publique de l'Institut de Recherche en Sciences de la Santé, le Laboratoire de Parasitologie-Entomologie du Centre Muraz et du Department of Tropical Hygiene (University of Heidelberg). Il est avant tout le fruit de l'effort de toute une équipe et je ne saurais commencer ce rapport sans présenter mes vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué à sa réalisation.

Je prie le Professeur Laya L. SAWADOGO, Directeur du Laboratoire Biologie et Physiologie Animales de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude pour m'avoir accueilli dans son Laboratoire et orienté vers ce sujet depuis le DEA. Malgré vos multiples occupations vous vous êtes montré toujours disponible, et c'est un honneur pour moi de vous avoir comme président de ce jury.

A mon Co-Directeur le Dr Jean Noël PODA j'exprime toute ma reconnaissance et mes sincères remerciements pour ses qualités d'enseignant mais aussi d'homme. Vous avez su éveiller en moi l'intérêt pour le problème que constitue les schistosomiasés. Votre engagement sans réserve a été indispensable à ma formation et à la réalisation de ce travail. Je garderai un souvenir inoubliable de votre disponibilité, votre grande patience et vos grandes qualités scientifiques et humaines.

Puisse le Pr Jean Bosco OUEDRAOGO, trouver ici l'expression de ma grande reconnaissance. En acceptant de co-diriger cette thèse vous m'avez accueilli dans votre équipe de recherche pour quatre années d'intense apprentissage du métier de recherche. Vous avez fait montre d'une grande disponibilité et de patience à mon égard. Et plus que tout, vous avez su m'orienter et me laisser prendre les initiatives nécessaires, à même de permettre une bonne expression de mes capacités.

Je suis très sensible à la présence dans mon jury de thèse du Professeur Bhen S. TOGUEBAYE. Malgré vos occupations vous acceptez d'instruire et de juger ce travail. Veuillez trouver ici mes vives remerciements.

C'est un honneur d'avoir comme membre de ce jury le Professeur Robert T. GUIGUEMDE qui m'a accueilli dans son Laboratoire au Centre Muraz. Malgré vos occupations vous avez toujours suivi de près l'avancement de mes travaux depuis le début. Soyez assuré de ma profonde reconnaissance.

A mon enseignant et juge j'ai nommé le Professeur Gustave KABRE, je présente mes sincères remerciements et ma profonde gratitude. Vos conseils et vos encouragements ont été un apport important pour la réussite de notre formation et la réalisation du présent travail.

Il me plaît d'exprimer toute ma reconnaissance au Professeur Andreas RUPPEL, du Department of Tropical Hygiene (University of Heidelberg) pour l'accueil et l'encadrement dont il m'a gratifié durant mon séjour dans son laboratoire. Thank you for the long hours of « discussion-teaching ».

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à mes « aînés » de l'équipe de l'IRSS-Bobo (Drs Tinto, Traoré, Drabo, Diabaté, Dabiré, Toé, et Tarnagda) ainsi qu'aux amis (Valéa, Zongo, Diallo, Zéba, Jérémie et Didier) pour leur soutien et encouragement tout au long de ces années passé à leurs côtés. Ce travail est aussi le votre.

Mes remerciements vont également à toute l'équipe de l'IRSS (Boubacar Sawadogo, Théophile Kambou, Rasmané Ouédraogo) ainsi qu'à tout le personnel de l'Unité Parasitologie-Entomologie du Centre Muraz pour leur soutien à la réalisation des travaux de terrain. De même je tiens à remercier le Directeur de l'IRSS, le chef de Département Biomédical/Santé Publique de l'IRSS ainsi que le Directeur du Centre Muraz pour leurs soutiens multiformes à la réalisation de ce travail.

Toute ma reconnaissance va aussi à ma seconde famille (Césaire et Hortense Sanou ainsi qu'à leurs enfants) pour avoir accueilli l'inconnu qui est devenu un membre à part entière de la famille. Puissiez-vous trouver dans ce travail l'aboutissement de vos efforts.

Je ne saurais oublier tous mes amis ainsi que tous mes promotionnaires (Dia, Aly, Constance, Olivier, Bayala, Tigana, Salif) pour l'esprit de solidarité et qui a toujours régné tout au long de notre formation. Qu'ils soient assurés de ma sincère amitié.

A ceux qui ont toujours été là, j'ai cité Ambroise, Achille et Hubert, et Laetitia je voudrais par ces lignes vous témoigner mon amitié et ma profonde reconnaissance pour votre soutien par tout temps.

Enfin à Eliane A. Zerbo, (je ne t'avais pas oublié) merci pour le soutien dont tu m'as fait montre durant toutes ces années.

Le présent travail a reçu soutien financier de plusieurs organismes (WHO-TDR ID N°A20199 ; Aire Développement, UWREF-154 et la German Academic Exchange Service (DAAD)) auxquels nous tenons à présenter nos sincères remerciements pour leurs contributions respectives.

Le présent travail a été valorisé par trois publications dans des revues scientifiques :

1. **Sorgho H.**, Bahgat M., Poda J.N., Song W., Kirsten C., Doenhoff M.J., Zongo I., Ouédraogo J.B. and Ruppel A., 2005. Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infections in an endemic area of Burkina Faso : performance of several immunological tests with different parasite antigens. *Acta Tropica*, 93, 169-180.
2. Bahgat M., **Sorgho H.**, Ouédraogo J.B., Poda J.N., Sawadogo L. and Ruppel A., 2006. Enzyme-linked immunosorbent assay with worm vomit and cercarial secretions of *Schistosoma mansoni* to detect infections in an endemic focus of Burkina Faso. *Journal of Helminthology*, 80, 19-23.
3. **Sorgho H.**, Poda J.N., Sawadogo B., Sawadogo L. et Ouédraogo J.B. 2005. Amplitude des schistosomiasés urinaire et intestinale et efficacité du traitement au praziquantel dans les hydro-aménagements de Banzon et de la Vallée du Kou à l'Ouest Burkina Faso. *Science et Technique* (sous presse).

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	2
SIGLES ET ABREVIATIONS	3
I. INTRODUCTION GENERALE	5
II. OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	7
1. Objectif général	7
2. Objectifs spécifiques	7
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES SCHISTOSOMES	8
1. CLASSIFICATION ZOOLOGIQUE ET REPARTITION MONDIALE DES SCHISTOSOMES.....	8
1.1. Les différentes espèces.....	9
1.1.1. Groupe <i>Schistosoma haematobium</i>	9
1.1.2. Groupe <i>Schistosoma mansoni</i>	11
1.1.3. Groupe <i>Schistosoma japonicum</i>	12
1.1.4. Groupe <i>Schistosoma indicum</i>	13
2. CYCLE BIOLOGIQUE DES SCHISTOSOMES	14
2.1. Les schistosomes adultes.....	16
2.2. L'œuf.....	16
2.3. Le miracidium	17
2.4. Le sporocyste.....	17
2.5. Les cercaires	18
2.6. Le schistosome adulte	19
3. LES MOLLUSQUES HOTES INTERMEDIAIRES DES SCHISTOSOMES.....	19
3.1. Classification zoologique	20
3.2. Bioécologie.....	20
4. DIAGNOSTIC DE LA SCHISTOSOMIASE.....	21
4.1. Le diagnostic clinique.	22
4.2. Le diagnostic parasitologique.....	23
4.3. Le diagnostic immunologique.	23
4.3.1. Les méthodes de détection d'anticorps.	24
4.3.2. Les méthodes de détection d'antigènes parasitaires.....	25
4.4. Autres méthodes diagnostiques de la schistosomiase.....	25

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	26
1. PRESENTATION DES SITES D'ETUDE	26
2. POPULATION D'ETUDE ET COLLECTE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES	29
3. LES ANALYSES PARASITOLOGIQUES	29
3.1. Les examens d'urines	29
3.2. Les examens de selles	30
4. EVALUATION DE L'EFFICACITE DU TRAITEMENT AU PRAZIQUANTEL	31
5. LES EXAMENS SEROLOGIQUES.....	31
5.1. Préparation des antigènes parasitaires.....	31
5.1.1. Maintenance de <i>Schistosoma mansoni</i> au laboratoire et production de parasites adultes.....	31
5.1.1.1. Infection de mollusque	32
5.1.1.2. Production de cercaires et infection de souris.....	32
5.1.1.3. Perfusion des souris et récolte de parasites.....	33
5.1.2. Les antigènes	34
5.2. Les tests sérologiques.....	37
5.2.1. L'haemagglutination indirecte (« IHA »).....	37
5.2.2. Les réactions d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).....	38
5.2.2.1. Le test ELISA avec le SWAP, SEA et le CEF6	38
5.2.2.2. Le test ELISA avec le WoV et le CS.....	39
5.2.3. L'immunofluorescence indirecte (« IFAT »)	40
5.2.3.1. Préparation des blocks de schistosomes	40
5.2.3.2. Réalisation des cryosections de schistosomes	41
5.2.3.3. Le test d'immunofluorescence.....	41
6. ANALYSE DES DONNEES	42
CHAPITRE III : RESULTATS	44
1. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE	44
2. RESULTATS PARASITOLOGIQUES	45
2.1. Profil parasitologique des schistosomiasés à Banzon et à la Vallée du Kou.	45
2.1.1. La schistosomiase urinaire.....	45
2.1.2. La schistosomiase intestinale à <i>Schistosoma mansoni</i>	47
3. EFFET DU TRAITEMENT AU PRAZIQUANTEL	50
4. LES RESULTATS SEROLOGIQUES	51
4.2.1. Caractéristiques de la réactivité des échantillons de sérum	52
4.2.2. Performance diagnostique des différents antigènes utilisés dans les ELISA	56
4.2.3. Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à <i>S. mansoni</i> dans la population d'étude	58
4.2.4. Séroprévalence de <i>S. mansoni</i> dans la population d'étude après traitement	64

CHAPITRE IV : DISCUSSION.....	67
1. LES RESULTATS PARASITOLOGIQUES.....	67
1.1. L'endémie bilharzienne dans les zones d'étude.....	67
1.1.1. <i>Schistosoma haematobium</i>	68
1.1.2. <i>Schistosoma mansoni</i>	69
1.2. Effet du traitement au praziquantel.....	71
2. LES RESULTATS SEROLOGIQUES.....	72
2.1. L'haemagglutination indirecte.....	72
2.2. Les tests ELISA.....	73
2.2.1. La réactivité des sérums.....	73
2.2.2. Performance diagnostique des antigènes utilisés en ELISA.....	74
2.3. Le test d'immunofluorescence indirecte.....	79
2.4. Place du diagnostic sérologique dans une perspective de contrôle de la schistosomiase.....	80
CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	83
1. CONCLUSION.....	83
2. PERSPECTIVES.....	84
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	86

Résumé

L'identification et le traitement des sujets infectés constituent un pré requis au succès de tout programme de lutte contre une parasitose. Dans le cas particulier de la schistosomiase intestinale, il a été montré que la détection des œufs du parasite par la microscopie est peu sensible surtout dans les cas de pauciparasitisme. Par ailleurs l'ampleur des schistosomiasés urinaire et intestinales dans la partie Ouest du Burkina Faso demeure mal connue. La présente étude présente une évaluation de l'ampleur de l'endémie bilharzienne dans deux hydro-aménagement de l'Ouest du Burkina Faso et une évaluation du potentiel diagnostique de plusieurs antigènes de *Schistosoma mansoni* pour le sérodiagnostic de la schistosomiase intestinale.

L'étude s'est déroulée dans les villages de Banzon et de la Vallée du Kou. Elle a concerné 1185 sujets des deux sexes habitants de ces localités. Tous les sujets inclus ont fourni au moins un échantillon d'urine, de selles et de sang pour les analyses. En plus de l'examen parasitologique des selles (Kato-Katz) et des urines (filtration), trois systèmes de diagnostics sérologiques ont été utilisés dans cette étude. Il s'agit de, l'haemagglutination indirecte (IHA), de l'enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) et de l'immunofluorescence indirecte (IFAT). L'IHA était à base d'antigène soit de vers adultes de *S. mansoni* (SmIHA) soit d'œufs de *S. japonicum* (SjIHA). Pour les ELISAs, nous avons utilisé cinq préparations d'antigènes de *S. mansoni* antigen à savoir : soluble worm antigen (SWAP), soluble egg antigen (SEA) and cationic egg antigen fraction 6 (CEF6), worm vomit (WoV) et cercarial secretions (CS). Enfin l'IFAT a été réalisée avec des sections de vers adultes de *S. mansoni* de sexe male.

L'examen des lames de Kato-Katz a mis en évidence l'existence d'un foyer mixte et hypoendémique de *S. haematobium* et *S. mansoni* à Banzon. Leurs prévalences respectives étaient de 18,8 % et 21,2 %. A la Vallée du Kou par contre seul *S. mansoni* a été rencontré avec une prévalence de 48%. *S. haematobium* semble avoir disparu de cette vallée car seuls trois cas ont été rencontrés sur l'ensemble des échantillons d'urines examinés.

La performance des tests sérologiques a été étudiée à partir d'un sous échantillon de 455 sérums tous provenant de la Vallée du Kou. Les performances des ELISA étaient tous supérieurs à celles de l'IHA mais différaient entre elles en fonction de l'antigène. Les sensibilités des ELISAs étaient à l'exception de la CS (64 %) toutes supérieures à 90 % : SWAP (93,8 %), SEA (96 %), CEF6 (97 %) et WoV (94,6 %). La performance de l'IHA avec un antigène homologue (SmIHA, 85 %) était de loin supérieure à celle du test avec un antigène hétérologue (SjIHA, 56 %). L'immunofluorescence indirecte a présenté une performance similaire à celle de l'ELISA et les deux types de fluorescence ont été rencontrés. Mais celle liée au parenchyme parasitaire était très prédominante.

Presque tous les sujets qui excrétaient des œufs de *S. mansoni* dans les selles ont présenté une réactivité positive en ELISA. Ceci était aussi observé chez un grand nombre de sujets négatifs au Kato-Katz. Néanmoins aucune corrélation n'a été observée entre le décompte des œufs de parasite et les densités optiques obtenues en ELISA. Par contre des corrélations ont été observées entre les antigènes ayant une origine commune : SEA-CEF6 ($R = 0,808$) et SWAP-WoV ($R = 0,912$).

L'étude a montré que le traitement au praziquantel conduisait à des taux de négativation supérieurs à 80 % pour les deux espèces de parasite. Néanmoins la majeure partie des sujets présentaient toujours des réactions positives en ELISA.

Au vu de nos résultats, des études ultérieures devraient être entreprises afin d'améliorer les performances des tests ELISA (spécificité) et aussi pour le développement de test IHA à base d'œufs de parasite. Aussi des matières biologiques autre que le sérum devraient être recherchées pour ces études.

Mots clés : Schistosomiase, Kato-Katz, sérodiagnostic; *Schistosoma mansoni*; haemagglutination indirecte assay (IHA), Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Immunofluorescence indirecte (IFAT), Burkina Faso.

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableaux

Tableau I : Répartition de la population d'étude par groupe d'âge et par sexe dans les deux localités.	44
Tableau II : Effet du praziquantel (utilisé à la dose unique de 40 mg.kg ⁻¹) sur les résultats parasitologiques à Banzon et à la Vallée du Kou	50
Tableau III : Prévalence de <i>S. mansoni</i> à l'aide des tests d'haemagglutination indirecte en fonction de l'antigène utilisé (SjIHA et SmIHA)	51
Tableau IV : Intensités des réactions d'haemagglutination observées avec les deux types d'antigènes	52
Tableau V : Sensibilité et spécificité des différents tests ELISA.	56
Tableau VI : Valeurs prédictives positives et négatives des différents tests ELISA.	57
Tableau VII : Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à <i>Schistosoma mansoni</i> à la Vallée du Kou à partir de différents antigènes parasitaires.	60
Tableau VIII : Model de calcul du potentiel d'amélioration de la détection des sujets excréteurs d'œufs de parasites.	62

Figures

Figure 1 : Cycle biologique de quelques schistosomes infectant l'homme.....	15
Figure 2 : Localisation des villages de Banzon et de la Vallée du Kou	27
Figure 3 : Prévalence de l'infection à <i>Schistosoma haematobium</i> à Banzon selon l'âge et le sexe.	46
Figure 4 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de <i>Schistosoma</i> <i>haematobium</i> selon l'âge à Banzon.....	46
Figure 5 : Prévalence de <i>Schistosoma mansoni</i> dans les plaines irriguées de Banzon et de la Vallée du Kou.	47
Figure 6 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de <i>Schistosoma</i> <i>mansoni</i> selon l'âge à Banzon.	49
Figure 7 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de <i>Schistosoma</i> <i>mansoni</i> selon l'âge à la Vallée du Kou.....	49
Figure 8 : Dispersion des densités optiques en fonction de l'antigène dans la population générale à la Vallée du Kou	53
Figure 9 : Caractéristiques des densités optiques en fonction du statut parasitologique.....	54
Figure 10 : Diverses corrélations observées entre les réactifs et autres paramètres.....	55
Figure 11 : Courbe ROC montrant la performance des différents antigènes en ELISA.....	58
Figure 12 : Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à <i>Schistosoma</i> <i>mansoni</i> en fonction des groupes d'âge à la Vallée du Kou.....	61
Figure 13 : Caractéristique des densités optiques obtenues avant et après traitement chez des sujets positifs..	64
Figure 14 : Différents types de fluorescence obtenus en appliquant la Fluoline-H globuline-anti-IgG conjugué à de la fluoresceine- isothiocyanate (FITC) sur des sections de parasite préalablement incubées avec des sérums de sujets provenant de la Vallée du Kou.....	66

SIGLES ET ABREVIATIONS

- BCA** : Bicinchoninic acid
- CAA** : Circulating Anodic Antigen
- CCA** : Circulating Cathodic Antigen
- CEF6** : Cationic Exchange Egg antigen Fraction 6
- CS** : Cercarial Secretions
- DEM** : Dulbecco's Eagle's Medium
- DMEM** : Dulbecco's Modified Eagles Medium
- DMEM-NCS** : DMEM supplémenté avec du NCS
- DO** : Densité optique
- ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- epg** : egg per gram of feces
- FITC** : Fluoresceine-isothiocyanate
- IFAT** : Indirect Immunofluorescence Antibody Test
- IHA** : Indirect Heamagglutination Assay
- INSD** : Institut National de la Statistique et de la Démographie
- Kato-Katz** : technique du frottis fécal épais de Kato-Katz
- NCS** : Newborn Calf Serum
- OMS** : Organisation Mondiale de la Santé
- PBS** : Phosphate Buffered Saline
- PBS-T** : PSB supplémenté avec du tween 20
- ROC** : Receiving Operating Characterisitic Curve
- SEA** : Soluble Egg Antigen
- SjIHA** : IHA à base d'antigène de *Schistosoma japonicum*
- SmIHA** : IHA à base d'antigène de *Schistosoma mansoni*
- SWAP** : Soluble Adult Worm Preparation
- WHO** : World Health Organization
- WoV** : Worm Vomit

I. INTRODUCTION GENERALE

Décrites à la fin du 19^{ème} siècle en Asie puis en Afrique (JORDAN, 2000 ; ISHII *et al.*, 2003), les schistosomiasés humaines étaient initialement rencontrées dans l'ensemble du monde tropicale (DOUMENGE *et al.*, 1987) avec trois formes essentielles à savoir urinaire, intestinale et artéro-veineuse. Mais la distribution géographique de ces pathologies parasitaires dans le monde a connu un changement notable durant les cinq dernières décennies (CHITSULO *et al.*, 2000). Elle a été marquée par une décroissance très importante de la prévalence dans les pays asiatiques tandis qu'en Afrique on a assisté à une recrudescence de la prévalence des schistosomiasés urinaire et intestinale (ENGELS *et al.*, 2002). Cette situation a été favorisée par les vastes programmes d'hydrauliques qui y ont été effectués pour des besoins agricoles et/ou énergétiques. En effet la survenue d'endémie bilharzienne en Afrique subsaharienne, suite à des modifications de l'environnement, a été plusieurs fois rapportée (PAPERNA, 1970 ; STELMA *et al.*, 1993 ; N'GORAN *et al.*, 1997a, DE CLERCQ *et al.*, 2000). Ces hydro-aménagements par les conditions environnementales favorables qu'ils constituent pour tous les composants du complexe pathogène (hôtes et parasites), constituent des foyers où la transmission est très active conduisant à une épidémiologie très dynamique.

Le Burkina Faso à l'instar des autres pays sahéliens a aussi entrepris la construction d'aménagements hydro-agricoles depuis plus de quatre décennies dans le but de sécuriser son agriculture qui est soumise à une pluviométrie insuffisante et aléatoire. Ceci a influencé l'ampleur et la distribution des schistosomiasés urinaire et intestinale à l'échelle du pays (PODA et SAWADOGO, 1994 ; PODA *et al.*, 2003). En effet des études ont montré que la distribution des schistosomiasés urinaire et intestinale au Burkina Faso est organisée en foyers endémiques d'intensité variables en fonction de l'organisation des modes de vie et des conditions environnementales (PODA et SAWADOGO, 1994). Aussi plusieurs études ont été entreprises pour évaluer l'impact des hydro-aménagements sur l'endémie bilharzienne au Burkina Faso (PODA *et al.*, 2003). Mais la situation dans l'Ouest du pays, surtout celle de la schistosomiasé intestinale reste assez mal connue. Il paraissait donc

nécessaire d'inclure ce volet dans notre étude en vue de compléter un vide dans la connaissance que nous avons de la schistosomiase au Burkina Faso. Aussi ce volet a constitué un background indispensable pour la réalisation du second objectif de cette étude.

Par ailleurs si un réel espoir d'éradication de la schistosomiase était né avec la découverte du praziquantel (GÖNNERT et ANDREWS, 1977), cet espoir a été très vite entamé par la possibilité de réinfection après cure et la possibilité d'apparition de souches de parasites résistantes à cette drogue (FALLON *et al.*, 1995 ; ISMAIL *et al.*, 1996). Ainsi les efforts sont de nos jours focalisés sur le contrôle de la morbidité liée à cette maladie (BERGQUIST, 2002). Mais cet objectif ne peut être atteint sans des techniques diagnostiques efficaces permettant d'identifier les sujets ayant besoin de traitement. Dans ce domaine, il a été démontré que la technique parasitologique recommandée (Kato-Katz) n'était pas très sensible pour le diagnostic de la schistosomiase intestinale (DE VLAS et GRYSEELS 1992 ; KONGS *et al.*, 2001) surtout dans les cas d'infections légères. Ceci implique la nécessité d'identifier des techniques alternatives de détection de la présence du parasite. Pour ce faire plusieurs méthodes ont été développées. Ces méthodes sont soit des méthodes parasitologiques, soit des méthodes détectant des antigènes parasitaires ou encore des méthodes de détection d'anticorps anti-parasitaires ou d'autres produits dérivés du parasite. Parmi ces méthodes alternatives, peu réunissent la double propriété d'être fiable et peu coûteuse. L'haemagglutination indirecte et l'ELISA semblent être des candidats de choix pour atteindre cet objectif. Aussi l'un des objectifs de notre travail était l'évaluation des performances diagnostiques de plusieurs antigènes parasitaires en sérologie. Certains de ces antigènes sont déjà utilisés mais d'autres sont utilisés à titre expérimental pour la première fois

II. OBJECTIFS DE L'ETUDE

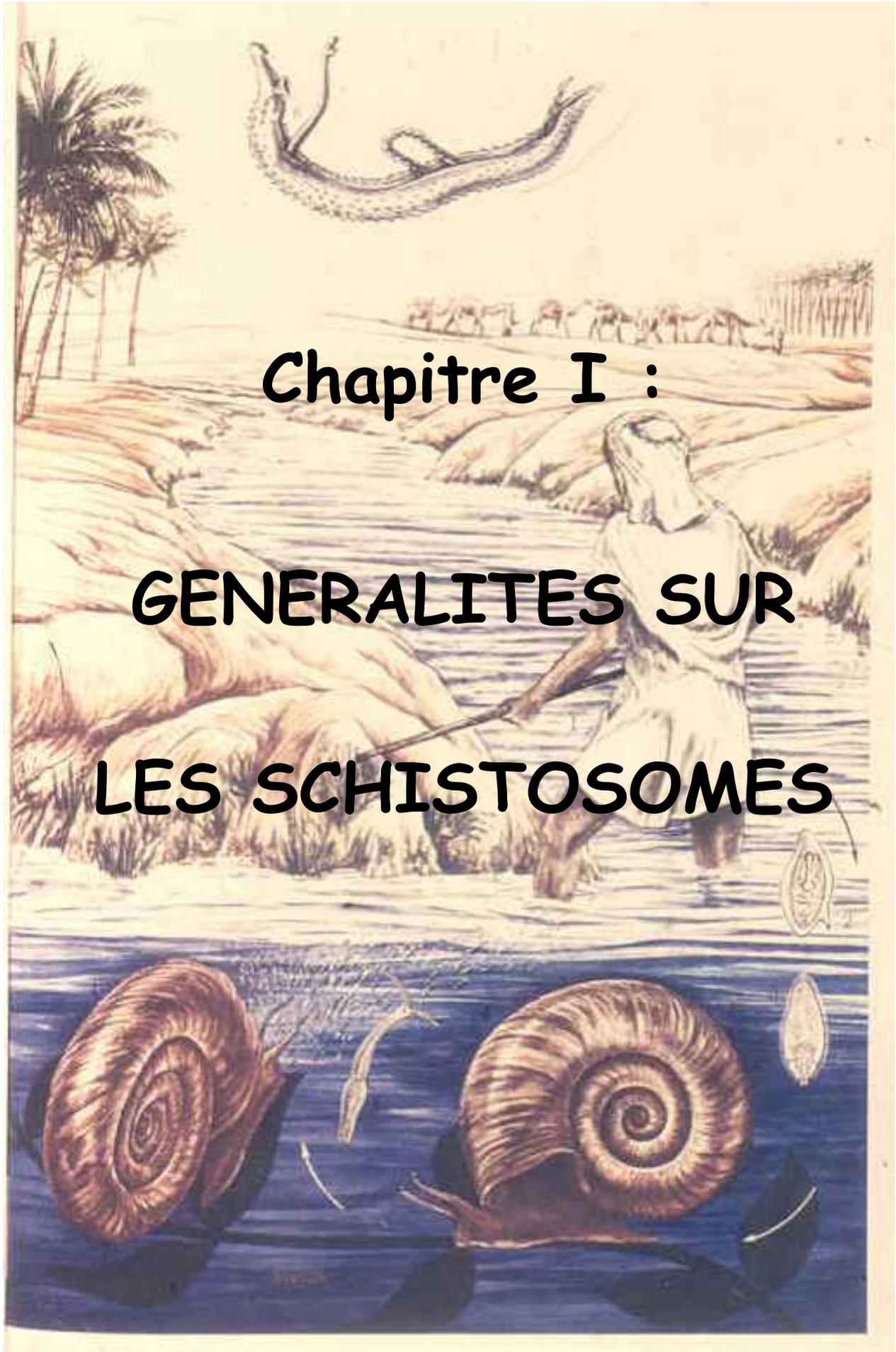
1. OBJECTIF GENERAL

L'objectif général du présent travail était l'évaluation de l'ampleur des schistosomiasés urinaire et intestinale dans les deux plus importants hydro-aménagements de l'Ouest du Burkina Faso et l'évaluation de différentes techniques de diagnostic sérologiques de la schistosomiase intestinale à *Schistosoma mansoni*.

2. OBJECTIFS SPECIFIQUES

Plus spécifiquement la présente étude vise à :

1. Décrire l'endémie bilharzienne au niveau des deux plus importants hydro-aménagements de l'Ouest du Burkina Faso,
2. Evaluer l'effet du traitement au praziquantel pour sur schistosomiasés urinaire et intestinale dans ces localités,
3. Evaluer les performances diagnostiques d'antigènes de *S. mansoni* déjà décrits pour haemagglutination indirecte et ELISA,
4. Evaluer les performances de nouveaux antigènes ayant un potentiel diagnostique en ELISA,
5. Identifier la meilleure combinaison « antigène-système de test » pouvant être utilisée dans un processus de contrôle de la schistosomiase intestinale.



Chapitre I :

GENERALITES SUR LES SCHISTOSOMES

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES SCHISTOSOMES

Les schistosomiasés ou « bilharziosés » sont provoquées par des Plathelminthes hétéroxènes de la famille des *Schistosomatidae* (POCHE, 1907) et du genre *Schistosoma* (WEINLAND, 1858) dont le cycle passe obligatoirement par un gastéropode d'eau douce (hôte intermédiaire) ; son hôte définitif pouvant être un mammifère ou oiseau. L'ampleur en terme de morbidité et de mortalité causées par ces parasitoses à l'échelle mondiale les placent au second rang après le paludisme parmi les maladies parasitaires humaines. En effet, plus de 200 millions d'humains sont affectés par les schistosomiasés dont 85% se rencontre en Afrique (CHITSULO *et al.*, 2000). En plus de leur impact pour la santé humaine, l'importance des schistosomes tient aussi sur leur capacité à infecter le bétail occasionnant ainsi des pertes économiques. On estime qu'au moins 165 millions de tête de bétail sont infectées par des schistosomes à travers le monde (DE BONT et VERCRUYSSSE, 1997, 1998).

La taxonomie des schistosomes et particulièrement la classification des différentes espèces a évolué en fonction de la disponibilité des moyens et techniques d'analyse (LOCKYER *et al.*, 2003). De la morphologie des œufs à la biogéographie en passant par la nature des hôtes intermédiaires, les méthodes d'étude actuelles sont essentiellement basées sur l'analyse des gènes.

1. CLASSIFICATION ZOOLOGIQUE ET REPARTITION MONDIALE DES SCHISTOSOMES

De nos jours, 20 espèces de schistosomes sont généralement reconnues et celles-ci sont placées dans quatre groupes (ROLLINSON et SOUTHGATE, 1987) en fonction de :

- La localisation géographique
- L'« éperonage » des œufs du parasite
- La nature des mollusques hôtes intermédiaires

La position taxonomique des schistosomes est la suivante :

Embranchement des **Plathelminthes**, EHERS, 1985
 Sous-embranchement des **Rhadocoela**
 Infra-embranchement des **Doliopharyngophora**
 Super classe des **Cercomeria**, BROOHS, 1989
 Sous-superclasse des **Neodermata**
 Classe des **Cercomeridea**
 Sous-classe des **Trematoda**
 Infra-classe des **Digenea**
 Super-ordre des **Anepitheliocystidia**, La RUE, 1957
 Ordre des **Strigeida**
 Sous-ordre des **Strigeita**
 Super-famille des **Schistosomatoidea**, STILES HASSALL
 Famille des **Schistosomatidae**, POCHE, 1907
 Sous-famille des **Schistosomatinae**
 Genre **Schistosoma**, WEINLAND, 1858

1.1. Les différentes espèces

Des 20 espèces du genre *Schistosoma* connues, cinq sont des parasites infectant l'homme et 11 sont rencontrées en Afrique. La morphologie des œufs produits par les femelles permet de regrouper les schistosomes en quatre grands groupes :

- groupe de « *Schistosoma haematobium* »
- groupe de « *Schistosoma mansoni* »
- groupe de « *Schistosoma japonicum* »
- groupe de « *Schistosoma indicum* »

1.1.1. Groupe *Schistosoma haematobium*

C'est le groupe le plus important en nombre avec pour caractéristique principale la position terminale de l'éperon porté par les œufs. Il comporte deux espèces anthropophiles et neuf espèces à affinité zoophiles. Ce sont :

***Schistosoma haematobium* BILHARZ, 1852** : c'est l'agent de la schistosomiase uro-génitale. C'est le parasite le plus adapté à l'homme dans les conditions naturelles. Son aire de répartition couvre toute l'Afrique, le Proche et le Moyen Orient (Arabie Saoudite, Irak, Israël, Syrie et Iran). *S. haematobium* est transmis par plusieurs espèces de mollusques gastéropodes pulmonés du genre *Bulinus*.

NB : Tous les autres schistosomes du groupe « *S. haematobium* » admettent comme hôtes intermédiaires des gastéropodes pulmonés du genre *Bulinus*.

***Schistosoma intercalatum* FISCHER, 1934** : il est responsable de la schistosomiase rectale. Son aire de répartition est limitée exclusivement à l'Afrique équatoriale et sub-équatoriale (Cameroun, Gabon, République de Centre Afrique et les deux Congo).

***Schistosoma bovis* (SONSINO, 1975) BLANCHARD, 1895** : il détermine une schistosomiase intestinale chez les ruminants domestiques et quelques ruminants sauvages. Son aire de répartition est très large en Afrique. Il est absent à la pointe sud du continent. Il est aussi rencontré dans le bassin méditerranéen (Portugal, Espagne, Corse et Sardaigne) et également au Proche et Moyen Orient (Israël, Iran et Irak).

***Schistosoma curassoni* BRUMPT, 1931** : c'est un parasite intestinal des ruminants domestiques. Sa répartition semble se limiter à l'Afrique de l'Ouest : Burkina Faso, Gambie, Mali, Mauritanie, Niger, Nigeria et le Sénégal.

***Schistosoma matthei* VEIGLIA et Le ROUX, 1929** : il est responsable d'une schistosomiase intestinale chez les ruminants sauvages. Son aire de répartition se limite à l'Afrique au Sud de l'Equateur.

***Schistosoma leiperi* Le ROUX, 1955** : c'est un parasite des bovidés et équidés domestiques et sauvages. Sa répartition géographique se limite au Zimbabwe, la Zambie et la Tanzanie.

***Schistosoma margrebowiei* Le ROUX, 1933** : parasite des ruminants sauvages. Il se rencontre au Mali, Tchad, Zambie, Botswana et République Démocratique du Congo.

2.1.2. Groupe *Schistosoma mansoni*

Ce groupe est composé de quatre espèces dont trois zoophiles strictes et une anthropozoophile. La caractéristique principale des membres de ce groupe est la présence d'un éperon latéral. Ce sont :

***Schistosoma mansoni* (SAMBON, 1907)** : c'est l'agent de la schistosomiase intestinale de l'homme mais aussi d'autres mammifères (Muridés, Primates, Carnivores et Marsupiaux). Son aire de répartition correspond à l'Afrique inter-tropicale, l'Égypte, l'île de Madagascar, la Péninsule arabique. *S. mansoni* est aussi rencontré aux Antilles et dans le Nord-Est de l'Amérique latine.

NB : Tous les membres du « *Schistosoma mansoni* » admettent comme hôte intermédiaire des gastéropodes pulmonés du genre *Biomphalaria*.

***Schistosoma rodhaini* BRUMPT, 1931** : agent de la schistosomiase intestinale des rongeurs et de quelques espèces des genres *Canidae* et *Felidae*. Il est localisé au Burundi, Kenya, Ouganda, Rwanda et la République Démocratique du Congo.

***Schistosoma hippopotami* THURSTON, 1963** : parasite exclusif de l'hippopotame, il a été décrit en Ouganda mais son hôte intermédiaire demeure inconnu.

***Schistosoma edwardiense* THURSTON, 1964** : agent de la schistosomiase intestinale de l'hippopotame, il a été décrit en Ouganda.

2.1.3. Groupe *Schistosoma japonicum*

Encore appelé groupe à éperon rudimentaire, il compte trois formes dont deux antrozoophiles et une zoophile :

***Schistosoma japonicum* KATSURADA, 1904 :** Agent de la schistosomiase artéro-veineuse de l'homme et de certains animaux (rongeurs, ongulés et carnivores). Le Mollusque vecteur est un Prosobranche du genre *Oncomelania*. Son aire géographique recouvre l'Extrême Orient (Chine, Indonésie, Malaisie, Philippines et Thaïlande). La souche de Formose est exclusivement zoophile.

***Schistosoma mekongi* VOGÉ, BRUCKNER & BRUCE, 1978 :** agent d'une schistosomiase hépato-mésentérique chez l'homme, le chien et les Muridés, il est transmis par un Prosobranche du genre *Tricula* et est rencontré au Cambodge, au Laos, en Malaisie et en Thaïlande.

***Schistosoma sinensium* BAO, 1958 :** agent de la schistosomiase intestinale des rongeurs, dont le vecteur est un Prosobranche du genre *Robertsia*. Il est rencontré dans le Sud de la Chine et le Nord de la Thaïlande.

***Schistosoma malayensis* GREER *et al.*, 1988 :** parasite des rongeurs et pouvant infester accidentellement l'homme. Il est localisé en Malaisie et possède comme hôte intermédiaire aussi bien *Robertsia kaporensis* ou *Tricula aperta* des Prosobranches.

Schistosoma ovuncatum récemment décrit comme espèce au Nord Ouest de la Thaïlande (ATTWOOD *et al.*, 2002)

2.1.4. Groupe *Schistosoma indicum*

Les quatre membres de ce groupe ne se rencontrent que dans le sous-continent indien et en Asie du Sud-Est. Ils sont tous non anthropophiles et ils ont des œufs à morphologie variable. Ce sont :

***Schistosoma indicum* MONTGOMERY, 1906** : agent d'une schistosomiase intestinale de ruminants et équidés et est transmis par un gastéropode du genre *Indoplanorbis*

***Schistosoma incognitum* CHADLER, 1926** : responsable de la schistosomiase intestinale du porc et du chien et est transmis par un gastéropode pulmoné du genre *Lymnea*

***Schistosoma nasale* RAO, 1933** : provoque chez les ruminants une schistosomiase des muqueuses nasales. Il est aussi transmis par un mollusque du genre *Indoplanorbis*.

***Schistosoma spindale* MONTGOMERY, 1906** : agent d'une schistosomiase intestinale de ruminants et équidés. Il est transmis par un mollusque du genre *Indoplarnorbis*.

Au Burkina Faso, deux des trois schistosomes humains africains sont rencontrés. Il s'agit de *Schistosoma haematobium* et *S. mansoni*. Leur biogéographie est dictée par celle de leurs hôtes intermédiaires respectifs c'est-à-dire *Bulinus sp* pour *S. haematobium* (sauf *Bulinus forskalii*) et *Biomphalaria pfeifferi* pour *S. mansoni* (PODA et SAWADOGO 1994). *S. haematobium* est ainsi présent dans toutes les zones écologiques du pays alors que *S. mansoni* se cantonne dans la moitié Sud du territoire. On note néanmoins des poches d'apparition récente de *S. mansoni* telles le Sourou, Moktédo et Bagré (DIANOU *et al.*, 2003 ; PODA *et al.* 2003).

Les espèces zoophiles sont représentées par *S. bovis* et *S. curassoni* (BARA *et al.*, 1998). Ces deux espèces ont comme hôtes intermédiaires des mollusques du genre *Bulinus* présents dans le pays.

2. CYCLE BIOLOGIQUE DES SCHISTOSOMES

Dans la grande famille des Trématodes, la biologie des schistosomes constitue une particularité : en effet sur plus de 10000 espèces de Trématodes Digéniens connues, seuls les schistosomes sont exclusivement diocènes (sexes séparés) (PLATT et BROOKS, 1997). Leurs adultes vivent et se reproduisent dans le système vasculaire de l'hôte définitif. Une autre singularité des schistosomes vient du fait qu'ils sont les seuls membres de ce groupe (en plus des *Spirorchiidae* et des *Sanguinicolidea*) à pénétrer directement les téguments de l'hôte définitif par l'intermédiaire des cercaires.

Au sein du genre *Schistosoma* par contre, toutes les étapes du cycle parasitaire sont similaires pour toutes les espèces. Seuls les hôtes intermédiaires et définitifs et la localisation des vers adultes chez l'hôte définitif diffèrent (Figure 1). En effet ils ont tous un cycle hétéroxène avec deux hôtes obligatoires : un gastéropode dulçaquicole (hôte intermédiaire) chez qui a lieu la reproduction asexuée (sporocystogenèse et cercariogenèse) et un vertébré hôte définitif (homme ou autre animal) chez qui a lieu la reproduction sexuée. Ces deux grandes étapes sont liées par des formes libres du parasite à durée de vie courte qui assurent la recherche et l'infection de deux hôtes. Ces formes libres (miracidium et cercaire) sont non reproductives et vivent en milieu aquatique.

Les espèces de schistosomes communément étudiées sont celles parasitant les humains et le bétail du fait de leur importance sanitaire et économique.

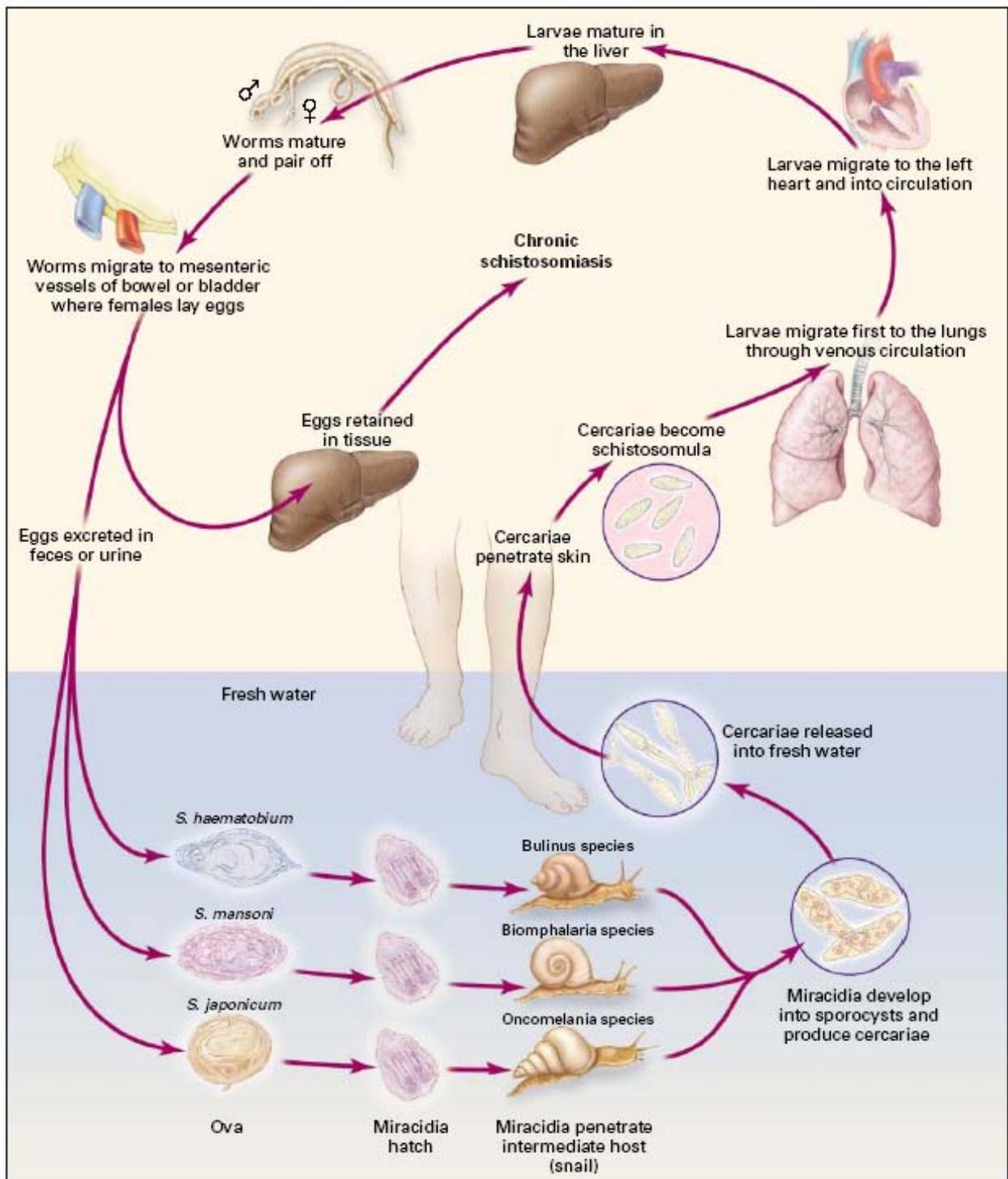


Figure 1 : Cycle biologique de quelques schistosomes infectant l'homme (Ross *et al.*, 2002)

2.1. Les schistosomes adultes

Au stade adulte les schistosomes sont hémaphages (ZUSSMAN *et al.*, 1970) et vivent accouplés dans le système circulatoire de l'hôte définitif : veines vésicales pour *S. haematobium* et veines mésentériques pour *S. mansoni* par exemple. Cette localisation correspond au lieu de ponte des œufs par la femelle qui est respectivement la paroi de la vessie et la paroi de l'intestin. En générale les vers adultes diffèrent essentiellement par le temps de pré-patence, la taille, le taux de production des œufs par les femelles et la taille de ces œufs (LOCKER, 1983).

Le dimorphisme sexuel est très marqué chez les schistosomes. Le mâle de couleur blanche mesure entre 9 et 20 mm de long sur 1 à 2 mm de large contre 12 à 28 mm de long sur 200 µm de large pour la femelle qui est brune. Celle-ci est logée dans le canal gynécophore du mâle. Sur le plan physiologique, la présence du mâle est indispensable (par les substances stimulatrices qu'il secrète) non seulement pour la maturité physique et sexuelle de la femelle mais aussi pour le maintien de cet état (LOVERDE et CHEN, 1991 ; GREVELDING *et al.*, 1997 ; HERNANDEZ *et al.*, 2004). La longévité du parasite est en moyenne 3 à 6 ans mais des cas de longévité exceptionnelle (30 ans) ont déjà été rapportés (HARRIS *et al.*, 1984). On a longtemps pensé que les couples de schistosomes une fois formés, restent unis toute leur vie mais des données d'études de compétition inter-espèces ont démontré qu'il y avait des changements de partenaires dans les couples pour des raisons non encore élucidées (PICA-MATTOCCIA *et al.*, 2000 ; COSGROVE et SOUTHGATE, 2002, 2003).

2.2. L'œuf

A partir de la maturité, la femelle fécondée peut pondre jusqu'à 300 œufs par jour pour la femelle *mansoni* et entre 3000 et 4000 pour la femelle *haematobium*. Les œufs sont de forme ovoïde, mesurent entre 90 et 200 µm selon les espèces et sont embryonnés (le miracidium) à la ponte.

Une fois pondus les œufs doivent traverser la paroi de la vessie ou de l'intestin (selon l'espèce) avant d'atteindre la lumière vésicale ou intestinale. Ils sont aidés par les enzymes lytiques secrétées par le miracidium mais aussi par le biais de la réaction inflammatoire déclenchée par le système immunitaire de l'hôte suite à leur présence dans les tissus hôtes (DOENHOFF *et al.*, 1986 ; KARANJA *et al.*, 1997, McKERROW, 1997). Environ 50 % des œufs réussissent ce passage et sont excrétés avec les fèces ou les urines pour poursuivre leur évolution dans le milieu extérieur : c'est la première forme de dispersion du parasite.

2.3. Le miracidium

Si l'œuf rejeté tombe dans de l'eau dont le pH avoisine la neutralité, de température comprise entre 25 et 30°C, de salinité inférieure à 0,5 g.l⁻¹ et en présence d'un ensoleillement suffisant, il éclos au bout de 8 heures maximum pour *S. haematobium* et 30 heures maximum pour *S. mansoni*. La larve issue de cette éclosion est appelée miracidium. C'est une larve ciliée qui mesure entre 150 et 170 µm de long contre 20 à 70 µm de large selon l'espèce. Elle est très active et nage à une vitesse d'environ 2 mm.s⁻¹ à la recherche de l'hôte intermédiaire qu'elle infeste par effraction cutanée surtout au niveau des parties molles du mollusque (pied ou antennes). La recherche de l'hôte est très spécifique à chaque espèce et est gouvernée par des facteurs génétiques (KALBE *et al.*, 2004). De plus elle bénéficie de l'apport de stimuli chimiques notamment des macromolécules émises par le mollusque (HABERL *et al.*, 1995). La durée de vie des miracidia varie de 12 à 24 heures en fonction des conditions du milieu.

2.4. Le sporocyste

Si la rencontre miracidium-mollusque a lieu, il y a fixation du miracidium au tégument du mollusque puis pénétration. La traversée de la barrière

cutanée a généralement lieu au niveau des antennes et du pied du mollusque. Elle est facilitée par les sécrétions apicales du miracidium. Une fois à l'intérieur, la larve gagne l'hépatopancréas du mollusque où les cellules germinales contenues dans cette dernière s'individualisent en sporocystes. Les sporocystes correspondent aux stades parasites où se fait la reproduction asexuée ou sporocystogenèse. Ainsi le sporocyste primaire (SpI) issu de la métamorphose du miracidium produit des sporocystes fils (SpII, SpIII, SpIV etc). Ces sporocystes fils se métamorphosent à leur tour en un stade larvaire de second ordre, les cercaires. La conséquence du passage par des sporocystes fils est qu'un seul miracidium peut donner naissance à des centaines voire des milliers de cercaires toutes du même sexe.

2.5. Les cercaires

Les cercaires présentent une morphologie particulière avec une queue fourchue d'où leur nom de furcocercaire. C'est le dernier stade de multiplication asexuée et la deuxième forme de vie libre du parasite. La cercaire quitte le mollusque une fois mature et nage activement à la recherche de l'hôte définitif qu'elle doit obligatoirement rencontrer au bout de 48 heures au maximum. Tout comme le miracidium la méthode de recherche de l'hôte par les cercaires diffère selon l'espèce de schistosome (HAAS *et al.*, 1987, 1994). Aussi, des substances chimiques émises par l'hôte dont la plus importante est la L-arginine jouent un rôle important dans la reconnaissance de ce dernier (HAAS *et al.*, 2002). Les cercaires sont la seconde forme de dispersion du parasite et le facteur déterminant de la transmission de la maladie. Leur émission par le mollusque obéit à un rythme circadien qui est propre à chaque espèce de schistosome (N'GORAN *et al.*, 1997b ; WOLMARANS *et al.*, 2002;). Elle semble être réglée selon l'écologie de l'hôte définitif pour une transmission optimale (THERON, 1984).

2.6. Le schistosome adulte

Si la rencontre cercaire-hôte définitif a lieu, la cercaire s'attache à la peau de l'hôte grâce à sa ventouse buccale et déclenche le processus d'invasion. Ce processus à la fois mécanique (mouvements de sa queue) et chimique (libération de protéases) (LINDER, 1990 ; SALTER *et al.*, 2000) se termine par une pénétration du corps et une perte de la queue qui peut être précoce ou tardive (WHITFIELD *et al.*, 2003). Une fois sous la peau la cercaire se transforme en schistosomule qui va migrer suivant un mode et une vitesse spécifique à chaque espèce (GUI *et al.*, 1995 ; HE *et al.*, 2002 ; GRABE et HAAS, 2004, WANG *et al.*, 2005) jusqu'à une veinule d'où elle gagne le cœur puis les poumons par la circulation sous-cutanée. De là elle regagne le cœur après certaines transformations puis la circulation générale. Seules les schistosomules qui atteignent le plexus veineux hépatique pourront mûrir et devenir des schistosomes adultes. Après cela des couples se forment à ce niveau et il s'en suivra une maturation des femelles puis migration des couples vers le lieu de ponte. Le lieu de ponte varie selon l'espèce et détermine le mode d'excrétion des œufs par l'hôte définitif. Néanmoins dans les foyers mixtes où plusieurs espèces parasitaires co-existent, il se produit souvent la formation de couples hétérologues engendrant une excrétion d'œufs par une voie para-normale. C'est la base des interactions entre espèces compatibles comme le triplet *S. mansoni-haematobium-intercalatum* (CUNIN *et al.*, 2003).

3. LES MOLLUSQUES HOTES INTERMEDIAIRES DES SCHISTOSOMES

Ce sont des mollusques gastéropodes dulçaquicoles. Ils ont tous une coquille calcaire senestre non operculée constituée d'une seule pièce. Ils sont hermaphrodites et ceux rencontrés en Afrique sont de la sous-classe des *Pulmonata*. Les schistosomes du continent asiatique ont pour hôtes intermédiaires des prosobranches pulmonés.

3.1. Classification zoologique

Classe des : *Gastropoda* CUVIER, 1798

Sous classe des : *Pulmonata* CUVIER, 1917

Ordre des : *Basommatophora* SCHIDT

Super famille des : *Planorboïdea* RAFINESQUE, 1815

* Famille des : ***Planorbidae***

Sous famille des : *Planorbinae*

Genre : *Biomphalaria* PRESTON, 1910

* Famille : ***Bulinidae*** CROSS et FISCHER, 1880

Sous famille : *Bulinae*

Genre : *Bulinus* MULLER, 1781

3.2. Bioécologie

Les mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes ont des caractères bioécologiques communs. Ainsi, ils sont tous hermaphrodites, prolifiques, généralement herbivores et capables d'autofécondation. Il faut noter que l'allofécondation est aussi observée mais le mode de reproduction dominant dépend de l'espèce considérée. Les œufs pondus sont pris en masse dans une substance gélatineuse. L'éclosion a lieu au bout d'une semaine et la maturité sexuelle des jeunes mollusques est atteinte au bout d'un mois environ.

Les mollusques sont capables d'estivation mais leur durée de vie est d'environ une année. Ceci permet aux individus ayant passés la mauvaise saison en dormance de rétablir de nouvelles populations. Ils se déplacent en rampant sur les supports à l'aide d'un pied ventral ou en flottant à la surface de l'eau. Leur habitat est très varié allant des collections d'eau naturelles (lac, mares, ruisseaux) aux retenues artificielles telles que les barrages et les canaux d'irrigation.

Au Burkina Faso, six espèces de mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes sont présentes. Il s'agit de *Biomphalaria pfeifferi* KRAUSS, 1884 ;

Bulinus globosus MORELET, 1886 ; *Bulinus forskalii* EHRENBERG, 1831 ; *Bulinus senegalensis* MULLER, 1781 ; *Bulinus truncatus rohlfsi* CLESSIN, 1886 et *Bulinus umbilicatus* MANDAHL-BARTH, 1973. Ils occupent des zones écologiques différentes suivant les conditions climatiques et les capacités d'adaptation de chaque espèce (SELLIN *et al.*, 1980 ; PODA *et al.*, 1994). Ces auteurs ont montré que :

- *Bulinus truncatus* et *Bulinus senegalensis* sont présents sur tout le territoire avec cependant une préférence pour les milieux d'eaux stagnantes et permanentes chez *B. truncatus*. *B. senegalensis* semble préférer les mares temporaires.
- *Bulinus forskalii* est aussi répandu que ces derniers mais ses biotopes préférentiels sont les marigots temporaires et cours d'eau à écoulement lent.
- *Bulinus globosus* et *Biomphalaria pfeifferi* occupent les zones assez humides du Sud jusqu'au centre. Ils sont absents dans toute la zone sahélienne.
- *Bulinus umbilicatus* est localisé dans la partie Est du pays.

Ce sont ces mollusques qui assurent la transmission des schistosomes dans le pays (PODA et SAWADOGO, 1994) et on a :

- *Bulinus truncatus*, *B. senegalensis*, *B. globosus*, et *B. umbilicatus* sont responsables de la transmission de *Schistosoma haematobium*.
- *Biomphalaria pfeifferi* transmet *Schistosoma mansoni*
- *Bulinus forskalii* est le vecteur de *S. bovis* et *S. curassoni*. Mais les autres bulins peuvent aussi transmettre les schistosomes de bétail.

4. DIAGNOSTIC DE LA SCHISTOSOMIASE

Theodor Bilharz en 1852, fit sans doute la première contribution vers le diagnostic de la schistosomiase en décrivant les différents types d'œufs et d'éperons trouvés dans l'utérus des vers femelles récupérés des veines mésentériques ou vésicales de patients autopsiés. Il décrivit ainsi les premiers

cas de schistosomiase que Adolf Lutz reliât par la suite à la présence de ces œufs dans les urines et les selles en 1919. Mais depuis, plusieurs autres méthodes permettant de diagnostiquer cette affection ont été décrites.

4.1. Le diagnostic clinique.

Les présentations cliniques des schistosomiasés sont très variables et les signes associés sont fonction du stade de l'infection (ROSS *et al.*, 2002, DA SILVA *et al.*, 2005). Aussi, le diagnostic clinique des schistosomiasés se révèle très difficile à établir, surtout que ces signes sont communs à beaucoup d'autres maladies parasitaires.

Très tôt, pendant la phase aiguë on peut observer une dermatite inflammatoire aux points de pénétration des cercaires (éruption macropapulaire) surtout chez les sujets naïfs. Après cela, on a un ensemble de symptômes tels que fièvre, maux de tête, myalgie généralisée, toux, diarrhée, vomissement et souvent une hépato- ou une splénomégalie. La seconde série de manifestations cliniques survient avec la ponte des œufs par les parasites matures (4 à 6 semaines après infection). L'invasion des tissus de l'hôte par les œufs provoque de fortes réactions inflammatoires autour de ceux-ci dans le foie, et la paroi intestinale ou vésicale. Cette réaction aboutit à la formation de granulome autour des œufs qui sont l'origine même de la pathologie bilharzienne. Les conséquences à long terme de ce processus sont nombreuses et variées. Très souvent il y a apparition de fibroses hépatiques (schistosomiase intestinale), associées à de la diarrhée (souvent sanguinolentes), des maux de ventre et plus tard on peut avoir une hypertension portale et des varices œsophagiennes, des hématuries, des œdèmes, une hépatosplénomégalie, des ascites. Dans la schistosomiase urinaire chronique le signe clinique majeur est la dysurie et l'hématurie.

4.2. Le diagnostic parasitologique.

En l'absence de signes cliniques typiques le diagnostic différentiel de la schistosomiase se fait traditionnellement par la mise en évidence d'œufs éperonnés dans les urines ou les selles. Pour ce faire, plusieurs techniques ont été mises au point. Mais deux d'entre elles sont plus utilisées de nos jours à savoir la technique du frottis fécal épais de Kato-Katz pour la schistosomiase intestinale et la filtration des urines pour la schistosomiase urinaire (OMS, 1998). La méthode du frottis fécal épais a été initialement décrite par KATO et MIURA (1954) pour quantifier le nombre d'œuf de *Ascaris lumbricoides* dans les selles, puis adaptée pour la détection de *S. mansoni* par KATZ *et al.*, (1972) d'où le nom « Kato-Katz ». Ces méthodes en plus d'être quantitatives sont les plus adaptées aux études épidémiologiques car elles allient une simplicité d'exécution et un coût de revient assez bas. Elles sont pourtant limitées par une sensibilité réduite surtout dans les cas de pauciparasitisme.

D'autres méthodes plus sensibles existent mais sont très souvent laborieuses ou coûteuses. Parmi celles-ci on peut citer pour la schistosomiase intestinale :

- La concentration des œufs par centrifugation des selles (RITCHIE, 1948 ; EBERL *et al.*, 2002),
- Le test d'éclosion des miracidia (WEBER, 1973)
- La biopsie rectale FELDMEIER *et al.*, 1981 ; YASAWY *et al.*, 1989),
- La digestion des selles (MARSHALL *et al.*, 1989)

La centrifugation est aussi utilisée pour le diagnostic parasitologique de la schistosomiase urinaire (BRADLEY, 1965). Mais des kits de filtration très simples ont été développés et sont couramment utilisés surtout pour les interventions de terrain (PETERS *et al.*, 1976 ; GYORKOS *et al.*, 2001).

4.3. Le diagnostic immunologique.

Les méthodes immunologiques de diagnostic des schistosomiasis peuvent être regroupées en deux grands groupes : les méthodes directes détectant la

présence du parasite à travers ses antigènes circulants, et les méthodes indirectes détectant les anticorps produits par l'organisme hôte en réaction à la présence du parasite.

4.3.1. Les méthodes de détection d'anticorps.

Une infection patente par les schistosomes est très immunogénique si bien que la démonstration de l'existence d'anticorps ou d'une réponse immune à médiation cellulaire anti-schistosome est assez aisée. Aussi plusieurs techniques immunologiques ont été utilisées pour détecter des anticorps dirigés contre divers antigènes de tous les stades parasitaires. Ainsi des tests de fixation du complément, d'immunofluorescence, d'agglutination indirecte, d'immunoélectrophorèse, de radio-immunologie et immuno-enzymatique ont été décrits. Parmi ces tests, les tests ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sont ceux qui ont connus le plus d'intérêt au vu de leur diversité. Cette méthode a été développée par ENGVALL et PERMANN, (1971, 1972) pour la quantification des immunoglobulines G. Elle a été adaptée pour la détection des maladies parasitaires par VOLLER *et al.*, (1976a). Elle a l'avantage d'être sensible, spécifique, reproductible et utilise de très petites quantités de matières biologiques (sérum et antigène). L'ELISA conventionnelle utilise des plaques de microtitration (VOLLER *et al.*, 1976b) ce qui permet l'analyse simultanée de plusieurs échantillons et facilite son utilisation dans les études épidémiologiques. Plusieurs variantes de l'ELISA ont été développées pour le diagnostic de la schistosomiase (dot-ELISA, k-ELISA, FAST-ELISA, DIG-ELISA) mais toutes sont basées sur la révélation d'anticorps ; seuls les supports de réaction diffèrent.

En plus de la multiplicité des systèmes de test, les méthodes de détection d'anticorps bénéficient de l'existence d'une large gamme d'antigènes. Presque tous les stades parasitaires sont sources d'antigènes utilisables en sérologie. Il faut ajouter à ceux-ci, les antigènes recombinants (KLINKERT *et al.*, 1991 ; HANCOCK *et al.* 1997) et les antigènes d'origine non parasitaire tels que le

Keyhole limpet haemocyanin (ALVES-BRITO *et al.*, 1992; XUE *et al.*, 1993 ; LI *et al.*, 1994)

4.3.2. Les méthodes de détection d'antigènes parasitaires.

OKABE et TANAKA (1961) sont probablement les premiers à rapporter le potentiel diagnostique d'antigènes sécrétés ou excrétés par le parasite. Ceci a suscité d'intenses investigations (BERGGEN et WELLER, 1967 ; NASH *et al.*, 1974) qui ont abouti à la mise en évidence de deux antigènes circulants (DEELDER *et al.*, 1976 ; NASH et DEELDER, 1985) : le CCA ou Circulating cathodic antigen et le CAA Circulating anodic antigen. Ces deux antigènes sont les plus utilisés de nos jours pour le diagnostic de la schistosomiase. Aussi, la possibilité de détecter des antigènes circulants d'œuf de *S. haematobium* a été rapportée (AMANOR *et al.*, 1996 ; BOSOMPEM *et al.*, 1996 ; KAHAMA *et al.*, 1998). De nombreuses évaluations sur le terrain ont démontré la grande sensibilité et la spécificité de ces tests de détection de CCA et CAA. Mais la dépendance de ces tests vis-à-vis des anticorps monoclonaux limite leur utilisation dans des laboratoires spécialisés

4.4. Autres méthodes diagnostiques de la schistosomiase.

En plus des méthodes décrites ci-dessus, il existe d'autres méthodes directes et indirectes de détection d'une infection par les schistosomes. Parmi elles on peut citer la détection de la micro-hématurie (WILKINS *et al.*, 1979), l'utilisation de questionnaire (MOTT *et al.*, 1985 ; LENGELER *et al.*, 2002), l'échographie (HUSSAIN *et al.*, 1984 ; HOMEIDA *et al.*, 1988). Récemment l'utilisation de la « Polymerase Chain Reaction » (PCR) a permis la détection de l'ADN de *S. mansoni* dans le sérum et les selles de sujets infectés (PONTES *et al.*, 2002) ouvrant ainsi la porte à l'utilisation de marqueurs moléculaires dans le diagnostic. Néanmoins la recherche d'autres bio-marqueurs de la présence du parasite est toujours en cours (WANG *et al.*, 2004).



Chapitre II:

MATERIELS ET METHODES



CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. PRESENTATION DES SITES D'ETUDE

Deux localités ont été retenues pour la présente étude : Banzon et la Vallée du Kou. Ces deux localités distantes de 90 km, sont situées respectivement dans les provinces du Kéné Dougou et du Houet (Figure 2).

La Vallée du Kou doit son nom au fleuve « Kou » qui la traverse du Sud au Nord. Elle est située à l'Ouest du pays à 25 km au Nord de Bobo-Dioulasso. Cette vallée fait partie intégrante de la plaine du Kou qui se situe entre le 10° 55" et 11° 25" de latitude Nord et le 4° 20" et 4° 35" de longitude Ouest. Le climat rencontré dans cette zone est du type soudanien caractérisé par l'alternance d'une saison pluvieuse (mai - octobre) et d'une saison sèche (novembre - avril). L'aménagement de cette vallée a commencé en octobre 1968 et a permis l'irrigation de 1200 ha par dérivation essentiellement pour la culture du riz. La majeure partie des habitants provient du Nord du Pays, suite à une politique de migration organisée par l'état après la mise en valeur de la vallée. C'est ainsi que l'ethnie Mossi est devenue la plus dominante. La vallée est composée de quatre villages créés avec l'aménagement et d'un ancien village (Bama).

Sur le plan sanitaire, la vallée était caractérisée par la présence de l'onchocercose mais de nos jours c'est surtout le paludisme et les schistosomiasés qui y sont endémiques. Dans le cas particulier des schistosomiasés, la vallée abrite les deux espèces de schistosomes rencontrées au Burkina Faso, c'est-à-dire *Schistosoma haematobium* et *Schistosoma mansoni*. Malgré le fait que les données soient rares pour ce qui est de la vallée proprement dite, de nombreuses enquêtes ont mis en évidence la présence de ces deux parasites dans la région de Bobo-Dioulasso. Les données relatives à la vallée sont celles de SANSARRIC (1959), qui relevaient 14 % de prévalence de *S. haematobium* chez des scolaires dans la Vallée du Kou. Plus tard, TROROBAS (1977), a réalisée une série d'enquêtes parasitologiques dans plusieurs villages de la région.

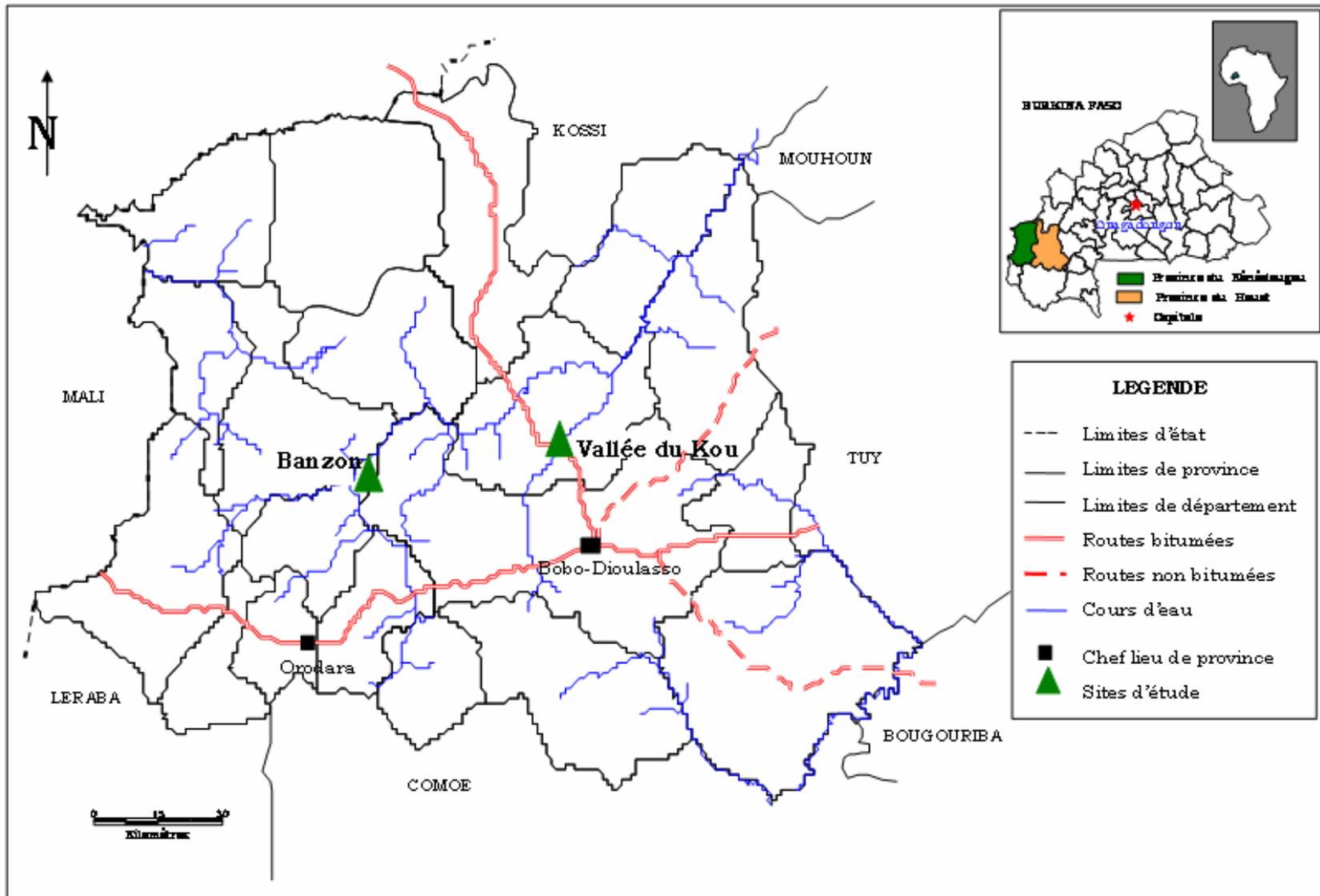


Figure 2 : Localisation des villages de Banzon et de la Vallée du Kou

Ses travaux ont mise en évidence des prévalences de *S. mansoni* allant de 1,3 à 44,6 % au sein de la population globale dans des villages de la région.

Sur le plan malacologique GAUD (1955) rapportaient la présence de *Biomphalaria sp.* dans la région de Bobo-Dioulasso. Mais de nos jours, d'autres espèces d'hôtes intermédiaires de schistosome sont présentes dans la vallée. Ce sont notamment *Bulinus truncatus*, *B. senegalensis* et *B. forskalii* qui sont présents dans les canaux d'irrigation les mares temporaires (PODA *et al.*, 1994).

Banzon, seconde localité d'étude est située à 11°21' de latitude Nord et 4°40' de longitude de Bobo-Dioulasso. Elle est traversée par le fleuve Mouhoun et le marigot Plandi formant la plaine alluviale de Banzon. La pluviométrie moyenne annuelle est de 1100 mm et les pluies (90 %) se concentrent entre le mois de Juin et celui d'octobre. La température varie de 12,1°C (janvier) à 38,2°C (avril) avec une moyenne de 25,15°C.

Les travaux d'aménagement de la plaine se sont déroulés de 1977 à 1981. La prise d'eau a été construite au lieu de jonction entre le Mouhoun et le Plandi et l'irrigation des champs se fait par des vannes réglables. La superficie actuellement exploitée est de 450 hectares sur un total de 1250 ha irrigables. Le riz est cultivé toute l'année tandis que le maïs n'est cultivé qu'en saison sèche. La plaine compte de nos jours 745 riziculteurs (possesseurs de casiers) qui pratiquent la riziculture manuelle, la traction animale ou la motoculture. La production du riz est variable et estimée entre 1,5 à 6 T/ha. Les riziculteurs sont organisés en coopérative.

Sur le plan démographique Banzon compte environ 9200 personnes (INSD, 1997) toutes ethnies confondues mais les Mossi constituent l'ethnie dominante. La localité dispose d'une école primaire et d'un Centre de Santé et de Promotion Sociale (CSPS).

Il est important de noter que si la présence de schistosomiasés urinaire et intestinale avait déjà été rapportée à la Vallée du Kou (SANSARRICQ, 1959 ; TROTOBAS *et al.*, 1977), cette étude constitue la première du genre sur les schistosomiasés dans le village de Banzon.

2. POPULATION D'ETUDE ET COLLECTE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

Les enquêtes transversales ayant permis l'inclusion des sujets se sont déroulées : à Banzon (Janvier à Février 2001) et dans la Vallée du Kou (octobre 2002). Durant ces enquêtes, l'équipe de recherche a parcouru les deux villages et a procédé à l'enrôlement de sujets volontaires des deux sexes suivant un échantillonnage aléatoire simple. Tous les sujets ont été dûment informés sur les objectifs et les conditions de déroulement de l'étude. Une fois que son consentement est acquis (matérialiser par la signature d'une fiche de consentement), chaque sujet était invité à répondre à un questionnaire administré par l'enquêteur. Ce questionnaire permettait l'identification du sujet et de récolter les informations relatives aux connaissances et attitudes des sujets liées aux schistosomiasés. Ensuite et seulement il leurs était fourni les pots de prélèvement d'urine et de selles. En addition 5 ml de sang veineux était prélevé pour les examens sérologiques. Ce sang était prélevé dans des tubes secs sous vide et gardés quelques heures à 4°C puis centrifugés à 2000 rpm pendant 30 minutes. Le sérum est alors séparé, aliquoté dans des microtubes et conservé à -30°C jusqu'à utilisation.

3. LES ANALYSES PARASITOLOGIQUES

Tous les échantillons d'urine et de selles recueillis ont été examinés pour la mise en évidence d'une infestation active par *Schistosoma haematobium* et/ou *Schistosoma mansoni*.

3.1. Les examens d'urines

La recherche d'œufs de *Schistosoma haematobium* a été faite par filtration des urines avec un filtre Nytrell (OMS, 1998). Les échantillons d'urines sont

recueillis entre 10 h et 14 h du même jour. Le contenu du pot est mixé manuellement puis 10 ml d'urine sont prélevées avec une seringue que l'on fait passer à travers un filtre de Nytrell (maille, 40 μ m). Le filtre est retiré du porte-filtre à l'aide de pince et déposé sur une lame puis recouvert d'une lamelle. La lecture est faite immédiatement après la filtration au grossissement x100 et tous les œufs rencontrés sont comptés.

3.2. Les examens de selles

La recherche des œufs de *S. mansoni* dans les selles a été réalisée par la méthode de Kato-Katz (KATZ *et al.*, 1972). Une petite quantité de selles est déposée sur du papier journal sur laquelle on applique un filtre métallique (ou de nylon) pour éliminer les gros débris. On remplit de selles tamisées un calibre déposé sur une lame porte-objet à l'aide d'une spatule. Le calibre qui permet de mesurer 41,7 mg de matière fécale est retiré et le cube de selles est recouvert avec une membrane de cellophane (4 x 5 cm) préalablement trempée dans une solution de glycérole (100 ml glycérol ; 100 ml H₂O ; 1 ml vert malachite à 3 %) pendant 24 heures. On étale ensuite les selles en couche mince par pression avec une autre lame. Les lames sont enfin exposées à la lumière solaire pendant quelques minutes pour éclaircissement. Les lames de Kato ainsi préparées sont lues au microscope au grossissement x400. Tous les œufs rencontrés sont comptés. La lecture ayant été faite sur 41,7 mg de matière fécale le résultat est exprimé en nombre d'œufs par gramme de fèces (egg per gram of feces, « epg ») en multipliant le nombre total d'œufs comptés par lame par 24. Au cas où les lames ne peuvent pas être lues immédiatement après préparation, elles sont rangées dans un coffret hors d'atteinte de l'humidité et à l'obscurité pour éviter un trop grand éclaircissement.

NB : 1. Au cours de la présente étude, tous les sujets négatifs après l'examen des premiers échantillons d'urine et/ou de selles ont été sollicités pour fournir une seconde série d'échantillons pour des examens dans la même semaine.

2. Pendant la lecture des lames de Kato-Katz, la présence d'œufs d'autres espèces parasitaires est notifiée mais pas quantifiée.

4. EVALUATION DE L'EFFET DU TRAITEMENT AU PRAZIQUANTEL

A l'issue de ces examens tous les sujets excréant des œufs de l'une ou l'autre des espèces de schistosome recherchées, ont été traités avec du praziquantel à la dose unique de 40 mg.kg⁻¹ de poids corporel (WHO, 2002).

En vue d'évaluer l'effet du traitement au praziquantel dans les sites d'étude un contrôle parasitologique (des urines et des selles) a été effectué sur les sujets positifs 7 semaines après le traitement suivant les mêmes procédures que lors du premier passage.

D'autre part, un traitement systématique au mebendazole (100 mg, 2 fois par jour pendant 3 jours consécutifs) a été administré à tous les participants à l'étude.

5. LES EXAMENS SEROLOGIQUES

5.1. Préparation des antigènes parasitaires

5.1.1. Maintenance de *Schistosoma mansoni* au laboratoire et production de parasites adultes.

La souche de *S. mansoni* utilisée pour la production de la majorité des antigènes utilisés dans notre étude est une souche de Porto Rico maintenu en culture au Département d'Hygiène Tropicale de l'Université d'Heidelberg (Germany).

5.1.1.1. Infection de mollusque

Le cycle de maintenance de *S. mansoni*, espèce de parasite utilisée pour la production des antigènes commence par l'infection du mollusque hôte intermédiaire, *Biomphalaria glabrata* par des miracidia. Pour ce faire, des foies (3 à 4) de souris infectées sont écrasés dans un mortier, homogénéisés dans 500 ml de NaCl 2X (1,8 %) et tamisés dans une éprouvette de 1 litre. L'homogénat est sédimenté pendant 20 minutes à température ambiante puis on laisse les œufs se décanter lentement. Le surnageant est renversé et le sédiment est transféré dans une fiole d'éclosion, remplie avec de l'eau de robinet et exposée à une source lumineuse artificielle (lampe). La lampe est placée à distance (30 - 50 cm) pour éviter aux miracidia d'être surchauffés. Après 30 minutes d'exposition les miracidia éclosent et nagent activement vers la source lumineuse. La collecte peut commencer après 1 heure d'exposition à l'aide d'une pipette Pasteur. Des miracidia sont introduits dans les puits d'une plaque de 24 puits servant à la culture tissulaire à raison de 8 à 12 miracidia par puits. Ensuite on y adjoint les mollusques à infecter (1 par puits). Les mollusques utilisés doivent avoir une taille comprise entre 5 et 6 mm car les mollusques âgés sont difficiles à infecter. La plaque contenant les mollusques est exposée à la lumière pendant 3 heures et sont transférés dans des bacs d'élevage. Après 2 semaines, les bacs sont recouverts avec une toile sombre (et gardés à l'obscurité) pour éviter l'émergence précoce de cercaires.

5.1.1.2. Production de cercaires et infection de souris

Trois à quatre semaines après l'infection, on procède à un contrôle de positivité des mollusques et ceux produisant des cercaires sont sélectionnés pour la production de cercaires nécessaire à l'infection des souris.

Environ 5 à 7 mollusques sont introduits dans des piluliers contenant environ 15 ml d'eau distillée qui sont ensuite exposés à une source lumineuse artificielle (néon de 36 watts). L'exposition à la lumière provoque, après un certain temps de latence une émission de cercaires de schistosomes par les

individus positifs. L'eau contenant les cercaires est transférée dans de petits pots en verre et le nombre de cercaires compté. Le décompte du nombre de cercaires se fait en déposant 50 ou 100 μ l de la suspension dans une cellule compte-cercaire et après ajout de quelques gouttes d'acide picrique (ou le liquide de Buin) pour immobiliser les cercaires. On procède au décompte d'au moins trois aliquots pour vérifier l'homogénéité de la distribution des cercaires. En addition il faut aussi s'assurer que les cercaires sont de bonne qualité c'est-à-dire qu'elles possèdent toutes une tête et une queue, qu'elles sont toujours mobiles et pas clampées. Elles doivent être gardées dans de l'eau propre. Pour s'assurer d'une bonne infectivité, seul les cercaires âgées entre 1 et 2 heures tout au plus sont utilisées.

Les souris sont anesthésiées par injection intra-péritonéale de 0,1 ml/10 g de poids corporel d'une solution d'anesthésique (0,34 ml de Narcoren, 9 ml solution saline et 1 ml d'éthanol absolue) à l'aide d'une seringue 27 G. L'effet de l'anesthésique dure environ 30 minutes. Après avoir rasé l'abdomen de chaque souris, elles sont immobilisées sur les plaques d'infection puis un anneau de métal est placé sur la partie rasée préalablement humectée à l'eau. On y introduit alors le nombre voulu de cercaires à l'aide d'une pipette. Si le volume est inférieur à 200 μ l, ajouter de l'eau. Les souris sont ainsi gardées pendant 20 minutes qui correspondent au temps nécessaire pour permettre la pénétration du maximum de cercaires à travers la peau. Après ce temps les souris encore endormies sont transférées dans des cages et gardées en observation jusqu'au réveil. Elles sont ensuite transférées en salle d'élevage après qu'il leur soit donné à boire.

5.1.1.3. Perfusion des souris et récolte de parasites.

Les souris sont perfusées pour la collecte de parasites 6 ou 7 semaines après l'infection. Pour cela chaque souris est anesthésiée avec la même solution que précédemment et immédiatement disséquée. Un cathéter est placé dans le ventricule gauche et un flux de solution de perfusion est envoyé dans le système circulatoire de l'animal à l'aide d'une pompe électrique. Une section de

la veine porte hépatique permet de recueillir les parasites qui sont décrochés par le flux du liquide et tombent dans une boîte de Pétri placée sous l'animal. La solution de perfusion est un milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagles Medium) supplémenté avec du NCS (DMEM-NCS) et de l'héparine. Le milieu est pompé jusqu'à ce qu'il devienne pale (signe que l'animal est vidé de son sang) et on nettoie les intestins et autres organes pour récupérer les vers qui s'y sont accrochés. Les parasites sont ensuite comptés sous une binoculaire et lavés par passage dans du milieu neuf puis on procède à l'expérience désirée.

5.1.2. Les antigènes

Cinq antigènes correspondant à trois stades différents du parasite ont été utilisés. Ce sont : SWAP, WoV, SEA, CEF6 et CS. Les antigènes suivants : SWAP, WoV, CS ont été produits à partir d'une souche de *S. mansoni* de Porto Rico maintenue en culture au Département d'Hygiène Tropicale de l'Université d'Heidelberg (Germany).

5.1.2.1. L'antigène SWAP (Soluble Adult Worm Preparation)

C'est un homogénat de schistosomes adultes obtenus par infection artificielle de souris : c'est l'antigène total préparé d'après la méthode décrite par RUPPEL *et al.* (1983) légèrement modifiée. Les vers adultes de *S. mansoni* obtenus par perfusion de souris infectées percutanément 8 semaines auparavant sont suspendus dans du PBS (pH 6,4) au nombre d'environ 100 couples de vers par millilitre de PBS. Ils sont homogénéisés au sonicateur pendant 5 minutes (Branson sonifier, 30 % duty cycle, output 6). Pendant cette étape le tube contenant les parasites est plongé dans un bain de glace et on ajoute un inhibiteur de protéase pour éviter la dégradation des protéines. L'homogénat est ensuite centrifugé à 11000 g pendant 10 minutes et sa concentration en protéine mesurée par la méthode BCA (bicinchoninic acid ; Pierce Chemical Co., Rockford, IL, USA). Le SWAP obtenu est conservé à -80°C jusqu'à utilisation ou peut être lyophilisé.

NB : Mesure de la concentration protéique par la méthode BCA.

Les kits ont été achetés auprès de la compagnie Pierce Chemical Co. (Rockford, IL, USA). Brièvement, on mélange la solution A à la solution B au ratio de 1/50 pour former une solution C. 0,1 ml des solutions standards et de la protéine inconnue sont introduites dans des tubes auxquels on ajoute 2 ml de la solution C. Le blank est constitué par 0,1 ml du diluent. Après avoir bien mixé les tubes, on les met à incuber à 37°C pendant 30 minutes. Après cela, les tubes sont refroidis à la température ambiante puis on procède à la mesure de l'absorbance de chaque tube à 562 nm contre de l'eau distillée comme référence. Il faut soustraire de l'absorbance des échantillons celle du blank.

5.1.2.2. L'antigène SEA (Soluble Egg Antigen)

C'est un homogénat d'œufs de *S. mansoni* isolés à partir du foie de souris infectées artificiellement (DOENHOFF *et al.*, 1981). 3 à 4 foies ou plus fraîchement prélevés sur des souris infectées artificiellement sont mécaniquement broyés dans un mortier et homogénéisés dans du NaCl 1 %. Le tissu hépatique est ensuite digéré par de la trypsine (ajouté à 0,6 - 0,7 % du volume de l'homogénat) à 37°C pendant 4-6 heures. Les œufs sont séparés par passage à travers des tamis successifs de maille décroissante (250 à 150 µm). Le filtrat est ensuite lavé abondamment avec du PBS (0,01 M, pH 7,2 contenant 0,9 % de NaCl), homogénéisé à l'aide du sonicateur pendant 3 minutes puis centrifugé à 2500 g pendant 10 minutes. L'homogénat d'œufs obtenu est centrifugé à 20000 g pendant 3 heures et le surnageant contenant les extraits totaux d'œufs est récupéré et la concentration protéique est mesurée par BCA. Le produit final est conservé dans du PBS (pH 7,2) à - 80 ou lyophilisé.

5.1.2.3. L'antigène CEF6 (Cationic exchange egg antigen fraction 6)

Le Cationic exchange egg antigen fraction 6 est un antigène purifié à partir d'œufs de *S. mansoni*. Il s'agit d'une fraction de SEA purifiée par chromatographie d'échange cationique suivant la méthode de DUNNE *et al.* (1984). Le SEA et le CEF6 utilisé dans la présente étude a été fourni par le Pr Mike Doenhoff de l'Université de Wales, (Bangor, United Kingdom)

5.1.2.4. L'antigène WoV (Worm Vomit)

Il s'agit d'une préparation constituée de régurgitâts de schistosomes adultes stimulés artificiellement *in vitro*. La production de WoV a été faite suivant le protocole décrit par BAHGAT *et al.* (2001). Les vers adultes de *S. mansoni* sont recueillis par perfusion de souris 6 à 7 semaines post-infection dans du DMEM supplémenté avec 5 % de NCS inactivé et de l'héparine (2,5 unités/ml). Le milieu est préalablement réchauffé à 37°C dans un bain Marie. Les vers sont regroupés par paire de 20 et introduits dans une boîte de Pétri contenant 1 ml d'eau distillée et mis à incuber à 4°C overnight. Le stress hydrique va induire la régurgitation du contenu intestinal des parasites. Le liquide est recueilli et sa concentration protéique mesurée par la méthode BCA. Des aliquots sont alors réalisés et conservés à -80°C jusqu'à utilisation.

5.1.2.5. L'antigène CS (Cercarial Secretions)

Le CS est constitué de produits de sécrétions de cercaires de *S. mansoni* stimulés *in vitro*. Cet antigène a été produit à partir de cercaires fraîchement émises par *Biomphalaria glabrata*, hôte intermédiaire du parasite, suivant le protocole précédemment décrit par BAHGAT *et al.* (2001). Les mollusques sont infectés par exposition à des miracidia émis par des œufs de parasites récoltés dans le foie de souris infectées.

Environ 10000 cercaires contenues dans 10 ml d'eau distillée sont alors introduits dans une boîte de Pétri dont le fond a été préalablement peint avec 10 µl d'acide linoléique (0,9 g/ml; Sigma, St Louis MO, USA) et séché à l'air libre. La boîte de Pétri est mise à l'étuve (37°C) pendant 30 minutes. L'acide linoléique va stimuler les cercaires qui vont déclencher le processus d'infection. Ils vont alors sécréter le contenu de leur glande acétabulaire. L'ensemble eau-cercaire et les sécrétions est alors transféré dans des tubes Falcon de 15 ml. Les tubes sont mis à sédimenter pendant 1 heure dans un bain de glace. Ensuite le liquide est récolté et centrifugé à 3000 g pendant 2 minutes. Le surnageant est transféré dans d'autres tubes, lyophilisé et reconstitué dans de l'eau distillée à 1/10 du volume initial. La concentration du produit final mesurée et il est conservé à -80°C jusqu'à utilisation.

5.2. Les tests sérologiques

5.2.1. L'haemagglutination indirecte (« IHA »)

Les réactions d'haemagglutination indirectes à base d'antigènes de *S. mansoni* (SmIHA) ont été réalisées à l'aide d'un kit de détection produit par la compagnie Dade Behring (Marburg, Germany) et utilisées suivant les instructions du fabricant. Le support solide était des plaques de microtitration avec un fond en forme de V (Greiner Labortechnik, Frickenhausen, Germany) :

Brièvement, le lyophilisat de globules rouges de mouton sensibilisés (SRBC) avec des broyats totaux de *S. mansoni* adulte est dilué dans 1 ml d'eau distillée, mixé délicatement et incubé à 4°C toute la nuit. Après l'incubation la solution est diluée deux fois avec du tampon Tris (0,1M ; pH 8) contenant du sérum de lapin inactivé. Ensuite 100 µl du mélange sont distribués dans chaque puits dans lesquels on ajoute 5 µl de chaque sérum à tester. La plaque est ensuite agitée avec un agitateur de plaque, et incubée pendant 2 heures à température ambiante. La dernière étape est la lecture effectuée à l'aide d'une lampe de lecture. Les puits positifs sont ceux qui présentent un spot

d'agglutination net d'érythrocytes au fond du puits. L'intensité de l'haemagglutination est scorée en intensité faible, moyenne, forte et très forte. Des échantillons servant de contrôle positif et négatif sont joints à chaque plaque.

Le second test d'haemagglutination est celui à base d'antigènes d'œufs de *S. japonicum* (SjIHA). Les kits de détection ont été obtenus auprès du Pr Yong-Long Li (Département de Parasitologie de l'Université de Wuhan, Chine). Les plaques de microtitration utilisées sont les mêmes que précédemment. Comme avec le SmIHA, le lyophilisat de SRBC est resuspendu dans 1 ml d'eau distillée. Mais dans ce cas présent deux dilutions (1:5 et 1:10) du sérum humain à tester sont réalisées. 10 µl de sérum sont introduits dans le premier puits d'une plaque de microtitration contenant 40 µl d'un tampon PBS (0,01 M ; pH 7,2) contenant 0,05 % de sérum de veau fœtal (dilution 1:5). Après mixage, 25 µl sont transférés dans le puits suivant contenant 25 µl de tampon (dilution 1:10). 15 µl de SRBC sont alors ajoutés à chaque puits, et l'ensemble homogénéisé par agitation et mise en incubation pendant 1 heure à température ambiante. La plaque est ensuite lue comme dans le SmIHA et tout échantillon de sérum présentant une réaction d'agglutination au moins à la dilution 1:10 est considéré positif. L'intensité de l'haemagglutination est aussi scorée indépendamment de la dilution.

5.2.2. Les réactions d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

5.2.2.1. Le test ELISA avec le SWAP, SEA et le CEF6

Les tests ont été réalisés suivant la méthode décrite par BAHGAT *et al.* (2001).

Avant l'analyse en série de l'ensemble des sérums on a procédé à une mise au point préalable des ELISAs par titration. Ceci a permis la détermination des concentrations optimales d'antigènes et de sérums à utiliser dans chaque cas.

Les plaques de microtitration Maxisorp (Nunc, Roskilde, Denmark) ont été coatées pendant 3 heures à température ambiante suivit de 4°C overnight avec

les différentes protéines à raison de 100 µl/puits : SWAP (2 mg/ml), SEA (1 µg/ml) et CEF6 (0,25 µg/ml). Le tampon de coating était un tampon carbonate à pH 9,6. Toutes les étapes suivantes sont similaires pour tous les antigènes et entre deux étapes les plaques sont lavées trois fois avec du PBS-Tween (pH 7,4 ; 0,01 M contenant 0,05 % de Tween 20 (PBS-T)). Les plaques coatées sont bloquées pendant 1 heure à 37°C avec 200 µl/puits de PBS-T-NCS (PBS-T supplémenté avec 5 % de sérum de vœu foetal (NCS)). On procède ensuite à l'addition de 100 µl/puits de sérum dilué à 1:100 dans du PBS-T-NCS. Le temps d'incubation du sérum est de 1 heure à température ambiante. Après lavage de l'excès d'anticorps non fixé, on ajoute le second anticorps qui est un IgG anti-humain de chèvre conjugué à la peroxydase (Dako Diagnostika, Hamburg, Germany). Ce dernier est dilué au 1:1000 dans du PBS-T-NCS et est ajouté au volume de 100 µl/puits. On observe encore un temps d'incubation de 1 heure à 37°C. Un dernier lavage est fait et on procède à la révélation par addition du substrat (100 µl/puits) suivie d'une incubation de 10 minutes à l'obscurité. La solution de substrat est un mélange de O-phenylenediamine (OPD ; Sigma, Deisenhofen, Germany) et de 3 % de H₂O₂, d'acide citrique (0.02 M) et du phosphate de sodium (0,05 M) à pH 5. La réaction enzymatique est stoppée par ajout de 20 µl/puits de H₂SO₄ (4 M). Les densités optiques sont lues au spectrophotomètre (ELISA-Reader MR 5000, Dynatech, Guernsey, Channel Islands) à 490 nm avec un filtre référence de 620 nm. Est considéré comme positif tout échantillon présentant un DO au dessus du cut-off défini pour chaque antigène. Ce cut-off a été calculé comme étant la moyenne des DO plus 2 déviations standard de 22 échantillons de sérum de donneurs de sang allemands n'ayant jamais été dans une zone endémique.

5.2.2.2. Le test ELISA avec le WoV et le CS

Les tests ELISA utilisant ces deux antigènes ont été réalisés suivant le protocole décrit précédemment (BAHGAT *et al.*, 2001) avec les particularités suivantes :

Les antigènes ont été utilisés à la concentration de 5 mg/ml pour le WoV et de 2 µg/ml pour le CS. Les volumes de coating étaient respectivement de 100 µl/puits pour le WoV et 50 µl/puits pour CS. Les serums ont été incubés à 37°C pendant 2 heures.

5.2.3. L'immunofluorescence indirecte (« IFAT »)

Cette méthode a été utilisée suivant le protocole décrit par LI *et al.* (2004) avec comme antigène des sections cryostats de schistosomes adultes de *S. mansoni*.

5.2.3.1. Préparation des blocks de schistosomes

Les parasites sont récoltés par perfusion de souris infectées et lavés avec le milieu de perfusion pour les débarrasser des cellules et de morceaux de tissus ou de poils de l'hôte. Les paires de parasites sont séparées et les mâles qui sont les seuls utilisés pour ce test sont transférés dans une autre boîte de Pétri. Ils sont lavés dans du milieu dépourvu de sérum puis égouttés à l'aide de papier filtre. On place ensuite un grand nombre de vers (distribués de manière aléatoire) dans des moules en plastique préalablement remplis de cire Tissue-Tek (Sakura Finetek Europe Zoeterwoude, The Netherlands). Les blocs de cire contenant les parasites sont congelés immédiatement à -20°C pendant au moins 6 heures à une journée. Une fois congelés, les blocs sont retirés des moules de plastic et enveloppés dans du papier aluminium. Eviter toute décongélation des blocs contenant les parasites durant les étapes suivantes. Les blocs ainsi confectionnés peuvent être conservés pendant 8 mois à -20°C.

5.2.3.2. Réalisation des cryosections de schistosomes

Le microtome et le portoir de bloc sont calibrés à -20°C. Le bloc de Tissue-Tek est alors déballé à l'intérieur même du microtome et fixé sur le portoir de bloc à l'aide d'une goutte de Tissue-Tek. Il faut attendre au moins une heure pour avoir une congélation complète puis couper lentement après avoir ajusté l'épaisseur à 6 µm. Une fois que l'on aperçoit des parasites dans les sections (petits points bruns), on place la suivante sur une lame et on observe sous microscope pour confirmation. Le processus est poursuivi jusqu'à l'obtention de 4 à 8 (ou plus) vers par section et on place les sections suivantes sur des lames d'immunofluorescence (Medco, München, Germany). Les lames sont séchées à température ambiante overnight et sont ensuite enveloppées dans du papier kleenex et du papier aluminium et conservées à -20°C jusqu'à utilisation. Elles peuvent être ainsi conservées pendant 8 mois.

5.2.3.3. Le test d'immunofluorescence

Décongeler les lames pendant 10 à 15 minutes à température ambiante et les fixer dans du méthanol (80 % dans du PBS pH 7,2) pré-réfrigéré à 4°C. Le méthanol doit être de très bonne qualité (Merck, Darmstadt, Germany).

Ajouter le sérum humain après que les lames aient été séchées à l'air libre. Deux dilutions de chaque sérum ont été utilisées (1:20 et 1:40 dans du PBS pH 7,2). On ajoute 20 µl de chaque dilution de sérum aux sections et on incube pendant 30 minutes à 37°C en atmosphère humide. Il faut prendre soin de couvrir toute la surface du puits. Après incubation, les lames sont lavées deux fois avec du PBS à pH 7,2 pendant 10 minutes et séchées à l'air libre. On couvre ensuite les puits avec 30 µl du conjugué dilué au 1:60 dans du PBS contenant 0,01 % de Blue Evans (Merck, Darmstadt, Germany) et le tout mis à incuber. Le second anticorps était du Fluoline-H globuline-anti-IgG humain conjugué à de la fluoresceine-isothiocyanate (FITC) (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Après 30 minutes à 37°C en atmosphère humide, les lames sont lavées comme précédemment et recouvertes de glycérine (20 % dans du PBS)

puis de lamelles et on observe au microscope à fluorescence (Axioskop, Zeiss, Göttingen, Germany). Deux types de fluorescence sont observées : la fluorescence associée au tractus digestif (focale) ou celle associée au parenchyme du parasite (parenchymal). Le seuil de positivité est déterminé pour chaque sérum en évaluant la fluorescence (verte-jaunâtre contre un background rouge) à la plus grande dilution de 5 à 10 sections de parasites. Des échantillons de contrôle positif et négatif provenant de donneurs de sang allemands ont été inclus dans tous les tests.

6. ANALYSE DES DONNEES

6.1. Les données parasitologiques

Les données ont été saisies et analysées à l'aide des logiciels EPI-Info 6.4 et SPSS 10.1.

- Les intensités d'infection ont été exprimées par la moyenne géométrique des charges parasitaires après une transformation en $\text{Log}_{10} + 1$ de ces charges. Le test du chi carré (χ^2) a été utilisé pour la comparaison des proportions.
- Etait considérée comme significative, toute différence avec $p < 0,05$. Pour l'infestation urinaire, est considéré comme une infestation massive toute excrétion d'œufs ≥ 50 œufs/10ml.
- Quant aux selles, une excrétion d'œufs inférieure ou égale à 100 epg est considérée comme « légère ». Tandis qu'une excrétion d'œufs supérieure à 400 epg est considérée comme une infestation « massive ». Entre les deux (101 et 400 epg) l'infestation est considérée comme « modérée ».
- Les taux de réduction de l'excrétion d'œufs sont calculés suivant la

formule suivante : $100 \times \left[1 - \frac{\text{Moyenne géométrique après traitement}}{\text{Moyenne géométrique avant traitement}} \right]$

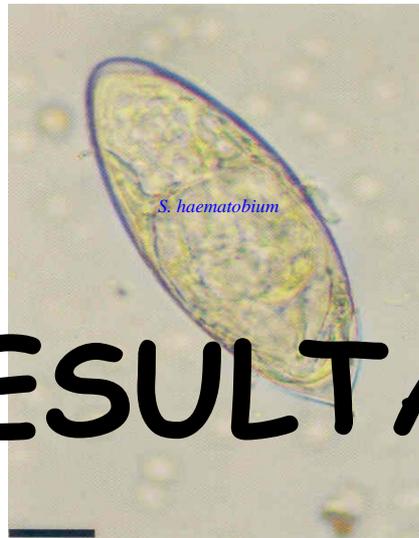
6.2. Les données sérologiques

Tout comme dans le chapitre précédent les données ont été saisies et analysées à l'aide des logiciels EPI-Info 6.4 et SPSS 10.1.

- La sensibilité d'un test donné a été définie comme le pourcentage de sérums donnant une réaction au dessus du cut-off parmi les sujets excréant des œufs de parasite dans les selles (HAMILTON *et al.*, 1998).
- La spécificité quant à elle a été définie comme le pourcentage de sérums donnant une réaction négative (en dessous du cut-off) parmi les sujets parasitologiquement négatifs (HAMILTON *et al.*, 1998).
- Les différences entre les pourcentages ont été estimées par le test du Chi carré tandis que les moyennes ont été comparées à l'aide du test de Student. Le test non-paramétrique de Mann-Whitney a été utilisé pour comparé les moyennes de réactivité entre les groupes.
- Pour la recherche de corrélation entre variables (tel que DO, age, décompte d'œufs de parasite etc.) le moment de Spearman a été utilisé.
- Les tests significatifs étaient ceux ayant montré un $p < 0,005$.



Chapitre III :



RESULTATS



CHAPITRE III : RESULTATS

1. CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION D'ETUDE

Un total de 1384 sujets a été initialement inclus durant les enquêtes mais seuls 1185 sujets ont effectivement fourni les échantillons d'urine et de selles. Ce dernier groupe était composé de 594 hommes et de 591 femmes (sexe ratio H/F de 1,01). L'âge des sujets était compris entre 6 et 47 ans avec une moyenne de $17,7 \pm 7,9$ ans. Parmi les sujets inclus, 833 soit 70,3 % travaillaient dans les parcelles irriguées. Le Tableau I indique la répartition des sujets selon l'âge, le sexe et la localité.

Tableau I : Répartition de la population d'étude par groupe d'âge et par sexe dans les deux localités.

Localité	Groupe d'âge (ans)						Total
		6-11	11-15	16-19	20-25	26-47	
Banzon :	Homme	63	67	72	38	43	283 (48 %)
	Femme	57	71	64	53	61	306 (52 %)
	Total Banzon	120	138	136	91	104	589 (100 %)
Vallée du Kou :	Homme	80	88	25	50	68	311 (52,2 %)
	Femme	71	77	25	61	51	285 (47,8 %)
	Total Vallée du Kou	151	165	50	111	119	596 (100 %)

2. RESULTATS PARASITOLOGIQUES

2.1. Profil parasitologique des schistosomiasés à Banzon et à la Vallée du Kou.

2.1.1. La schistosomiase urinaire

L'examen microscopique des urines a montré que *S. haematobium* était presque absent à la Vallée du Kou. En effet sur un total de 596 échantillons d'urine filtrés, seuls 3 contenaient des œufs du parasite. Dans la localité de Banzon par contre, la recherche d'œufs de *S. haematobium* a été positive chez 111 sujets, soit une prévalence globale de 18,8 %. Cette prévalence était significativement plus élevée ($p = 0,018$) chez les hommes (23 %) que chez les femmes (15 %) (Figure 3). De plus *S. haematobium* était plus fréquemment rencontré parmi les sujets travaillant dans les parcelles irriguées ($p = 0,014$) que ceux n'y travaillant pas. La prévalence la plus élevée a été observée dans le groupe d'âge de 11 à 15 ans (29,7 %) alors que la moyenne d'œufs excrétés la plus élevée a été observée dans la classe d'âge suivante (19,1 œufs/10ml). D'une manière générale, les intensités d'infection observées étaient modérées (Figure 4). En effet, la charge parasitaire moyenne observée dans notre population d'étude était de 14,2 œufs/10ml. A la différence de la prévalence, l'intensité de l'infection était similaire entre hommes et femmes ($p = 0,61$).

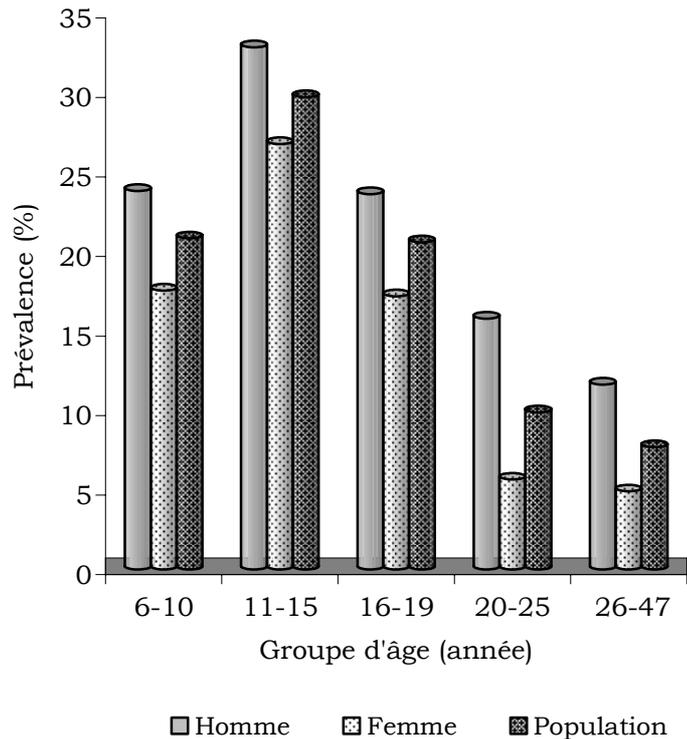


Figure 3 : Prévalence de l'infection à *Schistosoma haematobium* à Banzon selon l'âge et le sexe. (les prévalences sont rapportées sur l'effectif de chaque groupe d'âge).

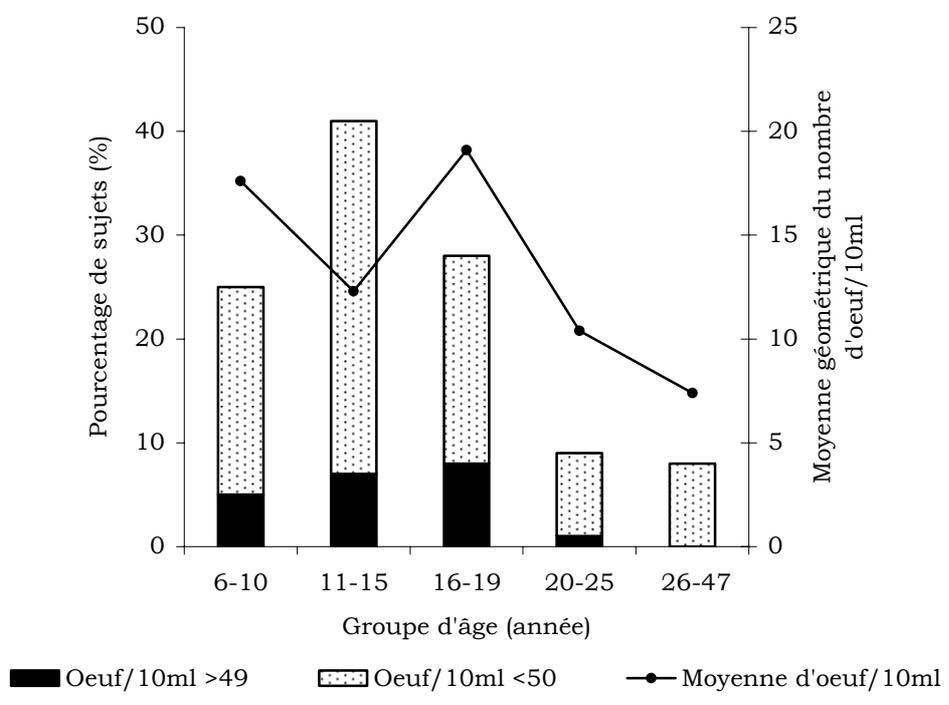


Figure 4 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de *Schistosoma haematobium* selon l'âge à Banzon.

2.1.2. La schistosomiase intestinale à *Schistosoma mansoni*

A la différence de *S. haematobium*, l'examen microscopique des selles a montré la présence de *S. mansoni* dans les deux sites. Dans le village de Banzon 21,2 % des lames examinées présentaient des œufs du parasite. Ce chiffre était doublé à la Vallée du Kou où 288 lames étaient positives donnant une prévalence de 48,3 %. Dans l'ensemble le nombre d'hommes porteurs de parasite était significativement plus élevé que celui des femmes ($p < 0,001$). Cette différence était aussi observée à l'échelle des villages avec $p = 0,016$ pour les deux villages. La Figure 5 présente la prévalence de *S. mansoni* dans les deux sites d'étude en fonction du sexe et de l'âge des sujets. D'une manière générale le pic de la prévalence chez les sujets de sexe féminin est rencontré dans les groupes d'âge jeune tandis que celui des hommes n'apparaît qu'après 15 ans.

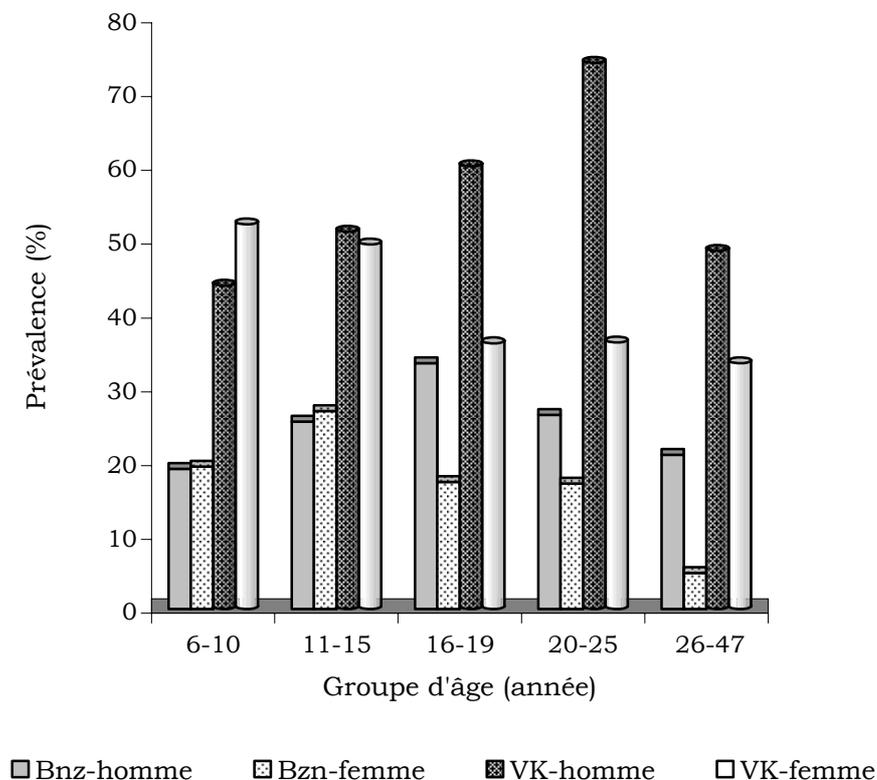


Figure 5 : Prévalence de *Schistosoma mansoni* dans les plaines irriguées de Banzon et de la Vallée du Kou. (Bzn- : Banzon- ; VK- : Vallée du Kou-).

Schistosoma mansoni était plus fréquemment rencontré chez les sujets travaillant dans les parcelles irriguées que chez les sujets n'y travaillant pas à Banzon ($p = 0,023$). La prévalence rencontrée dans ces deux groupes respectifs était de 24,2 % et 16,4 %. A la Vallée du Kou par contre, cette différence n'a pas été observée entre ces deux groupes de sujets ($p = 0,532$). La prévalence du parasite était de 47,7 % chez les riziculteurs contre 50,8 % dans le second groupe.

A l'image de la prévalence, l'intensité de l'infection par *S. mansoni* était variable en fonction du site et de l'âge. La moyenne géométrique du nombre d'œufs excrétés par l'ensemble de la population était de 148 epg à Banzon et de 132 epg à la Vallée du Kou. Les charges parasitaires moyennes étaient prédominantes dans les deux sites (Figures 6 et 7). En effet parmi les sujets positifs, 60 % d'entre eux excrétaient entre 100 et 400 epg à Banzon contre 50 % à la Vallée du Kou. Les infections sévères étaient notées chez moins de 10 % des effectifs quelque soit le village.

Les deux parasites étant uniquement rencontrés à Banzon, des cas de co-infection ont été notés dans ce village à une prévalence de 4,72 % (29 cas). Chez ces sujets, la charge moyenne en œufs de *S. haematobium* était de 9,33 œufs/10ml d'urine et de 91 epg pour *S. mansoni*.

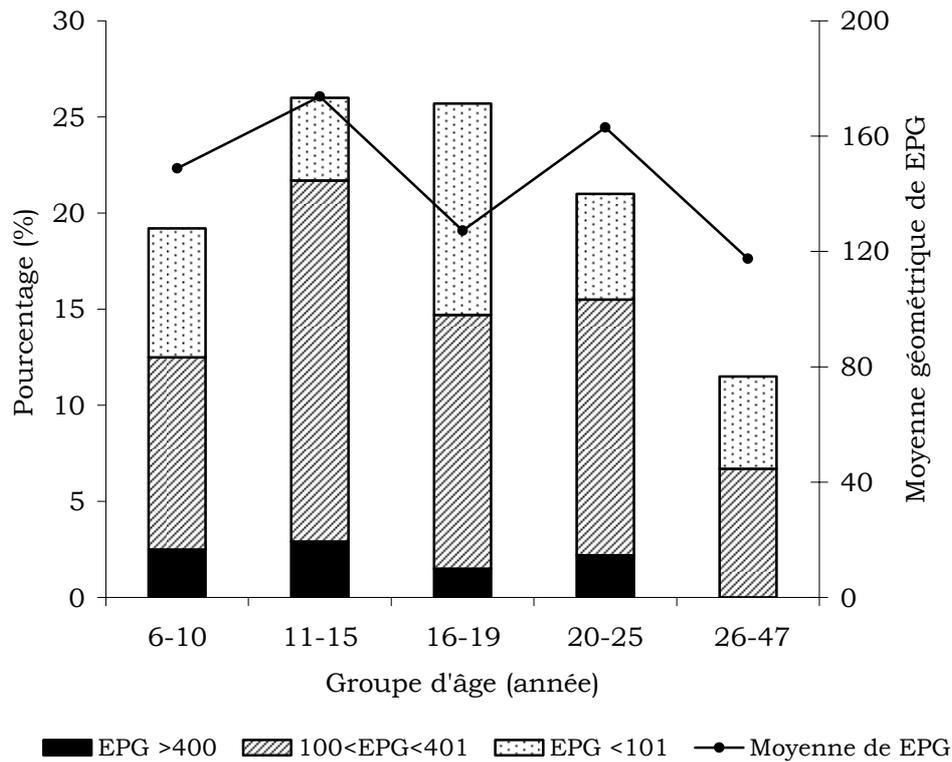


Figure 6 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de *Schistosoma mansoni* selon l'âge à Banzon.

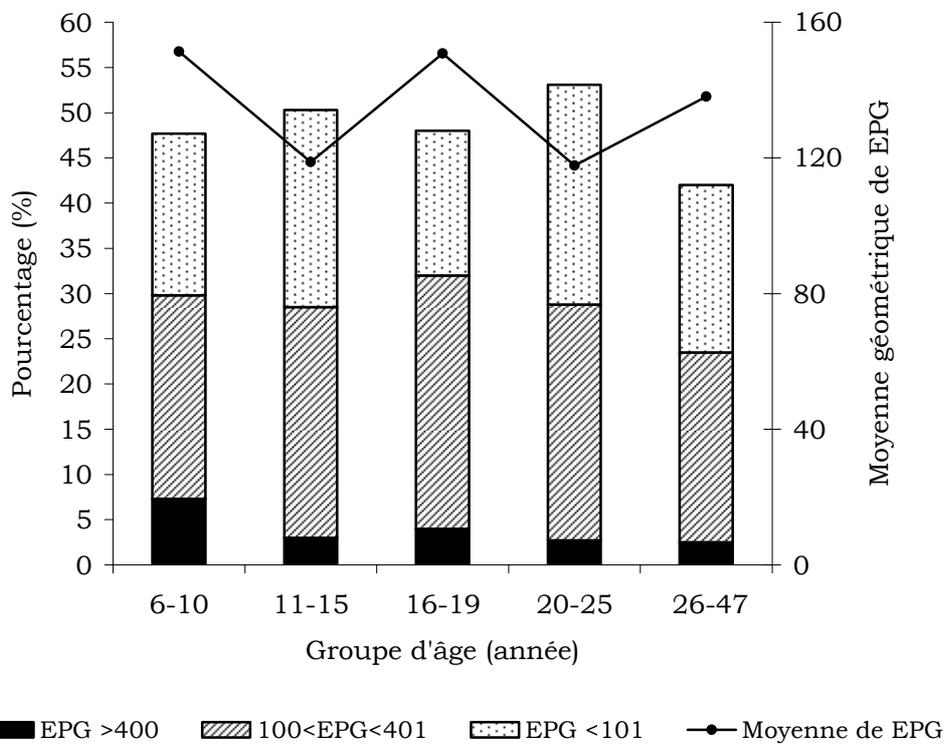


Figure 7 : Prévalence et distribution du décompte des œufs de *Schistosoma mansoni* selon l'âge à la Vallée du Kou.

3. EFFET DU TRAITEMENT AU PRAZIQUANTEL

Le Tableau II présente les résultats de l'évaluation de l'effet du praziquantel chez les sujets infectés par *S. haematobium* ou *S. mansoni*. Quelque soit le parasite considéré, les taux de négativation obtenus étaient tous supérieurs à 80 %, 7 semaines après le traitement dans les deux villages. En plus du taux de négativation, on a calculé le taux de réduction de l'excrétion des œufs des deux parasites chez les sujets qui sont demeurés positifs à l'issue du traitement. Les résultats ont montré que le taux de réduction de l'excrétion des œufs de *S. haematobium* (58,9 %) était relativement bas comparé à celui obtenu pour *S. mansoni* qui était respectivement de 64,5 % à Banzon et 72,1 % à la Vallée du Kou. Aussi, on a observé une importante chute de la moyenne d'œufs excrétés chez ces sujets traités et restés positifs surtout pour *S. mansoni*. Cette moyenne est passée de 147,6 epg à 32,9 epg dans le village de Banzon et de 131,9 epg à 62,8 epg à la Vallée du Kou.

Tableau II : Effet du praziquantel (utilisé à la dose unique de 40 mg.kg⁻¹) sur les résultats parasitologiques à Banzon et à la Vallée du Kou.

	Banzon		Vallée du Kou
	<i>S. haematobium</i>	<i>S. mansoni</i>	<i>S. mansoni</i>
Sujets examinés à J ₀	589	589	596
Sujets positifs à J ₀	111	125	288
Moyenne des œufs à J ₀	14,2 œufs/10 ml	147,6 epg	131,9 epg
Sujets examinés à J ₄₅	81	91	203
Sujets positifs à J ₄₅	15	13	21
Moyenne des œufs à J ₄₅	5,8 œufs/10 ml	32,9 epg	62,8 epg
Taux de négativation	81,5 %	85,7 %	89,6 %
Taux de réduction de l'excrétion des œufs	58,9 %	64,5 %	72,1 %

J₀ : Jour de traitement

J₄₅ : Jour de contrôle

epg : egg per gram of feces

4. LES RESULTATS SEROLOGIQUES

Les analyses sérologiques ont été réalisées sur un sous échantillon de 455 sérums récoltés avant et après traitement tous provenant de la Vallée du Kou (les échantillons de Banzon n'ont pu être analysés car détériorés). Parmi ces échantillons, 240 provenaient de sujets infectés par *S. mansoni*, à l'issu de l'examen de selles par la méthode de Kato-Katz.

4.1. L'haemagglutination indirecte

Au test d'haemagglutination indirecte utilisant des extraits d'œufs de *Schistosoma japonicum* (SjIHA), 59,3 % des sujets étaient positifs (Tableau III). Cette prévalence était de 76,3 % avec l'homogénat de *Schistosoma mansoni* (SmIHA). Les sensibilités calculées étaient de 56,3 % pour SjIHA et 85,4 % pour SmIHA. Leurs spécificités respectives étaient de 37,3 % et 34 %. Aussi les valeurs prédictives positives calculées pour ces tests étaient respectivement de 50 % pour SjIHA et 59,1 % pour SmIHA. Les valeurs prédictives négatives étaient les suivantes SjIHA, 43,2 % et SmIHA, 67,6 %.

Tableau III : Prévalence de *S. mansoni* à l'aide des tests d'haemagglutination indirecte en fonction de l'antigène utilisé (SjIHA et SmIHA)

Sujets	<i>S. japonicum</i> - IHA		<i>S. mansoni</i> - IHA	
	n	%	n	%
Population générale (n = 455)	270	59,3	347	76,3
Sujets positifs au Kato-Katz (n = 240)	135	56,3	205	85,4
Sujets négatifs au Kato-Katz (n = 215)	135	62,8	142	66,1

Les intensités d'haemagglutination observées avec les sérums positifs étaient à prédominance faibles suivies par les très fortes intensités d'haemagglutinations. La proportion des réactions moyennes et fortes était variable selon le test considéré (Tableau IV).

Tableau IV : Intensités des réactions d'haemagglutination observées avec les deux types d'antigènes (les chiffres en parenthèse donnent les pourcentages correspondants)

	Réaction négative	Réaction positive	Intensité d'haemagglutination parmi les cas positifs			
			Faible	Moyenne	Forte	Très forte
SjIHA	185 (40,7)	270 (59,3)	98 (36,3)	67 (24,8)	30 (11,1)	75 (27,8)
SmIHA	108 (23,7)	347 (76,3)	145 (41,8)	36 (10,4)	83 (23,9)	83 (23,9)

4.2. Résultats des ELISAs

Cinq antigènes différents ont été utilisés dans les ELISAs et les cut-off calculés à partir d'échantillons de sangs contrôles étaient respectivement de 0,23 ; 0,23 ; 0,18 ; 0,17 et 0,16 pour SWAP, WoW, SEA, CEF6 et CS.

4.2.1. Caractéristiques de la réactivité des échantillons de sérum

Sur le plan descriptif, les résultats obtenus en ELISA avec les différents antigènes ont été analysés en vue de ressortir les caractéristiques de la réactivité des sérums contre ces antigènes. Aussi les différents types d'associations (corrélations) de type sérologiques ou liées au statut des sujets (sexe, âge, parasitologie) ont été recherchés.

La réactivité dirigée contre les cinq antigènes des sérums et mesurée en ELISA a donné une large gamme de densités optiques (DO) avec des valeurs moyennes variables en fonction de l'antigène (Figure 8). Ces DO moyennes étaient de : SWAP ($0,54 \pm 0,30$), WoV ($0,61 \pm 0,36$), SEA ($0,53 \pm 0,26$), CEF6 ($0,46 \pm 0,22$) et CS ($0,27 \pm 0,19$) indépendamment du statut parasitologique des sujets. La réactivité maximale a été obtenue avec le CEF6 qui a réagit positivement avec 89,9 % des sérums. Ensuite suivent le WoV (86,8 %) le SEA (85,7 %) et le SWAP (85,5 %). Seulement 64 % de sujets étaient positifs au CS.

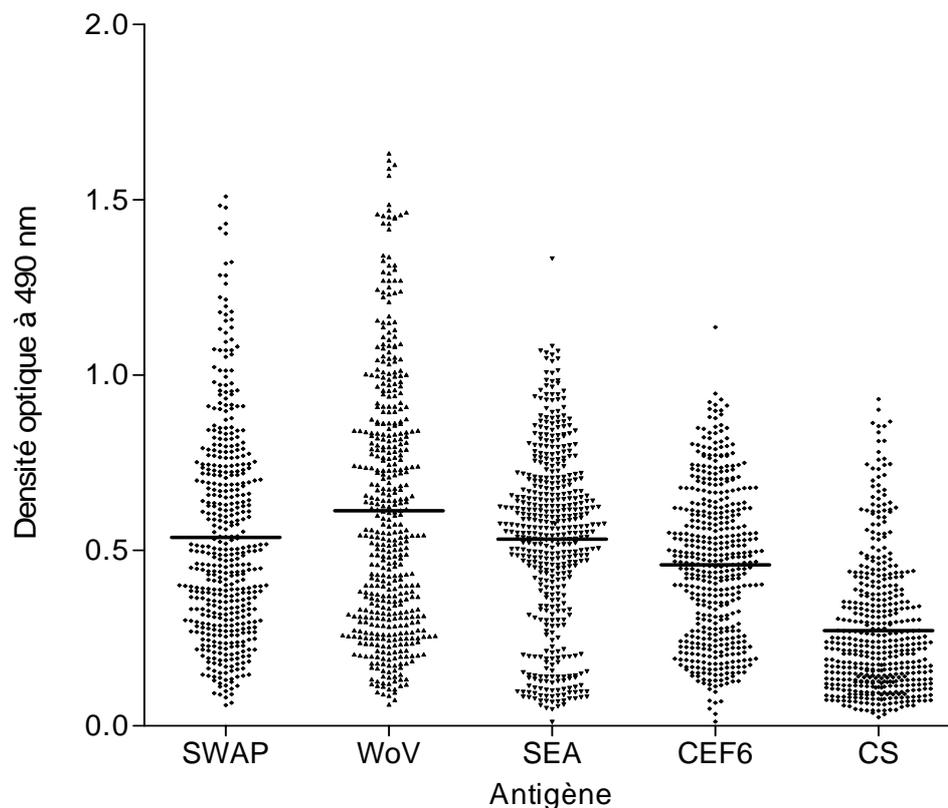


Figure 8 : Dispersion des densités optiques en fonction de l'antigène dans la population générale à la Vallée du Kou (les barres horizontales représentent les densités optiques moyennes de l'antigène)

La comparaison de l'intensité de la réactivité des sujets excréant ou non des œufs de *S. mansoni* dans les selles a montré que les premiers avaient des densités optiques moyens (médianes) significativement plus élevés que ceux du second groupe (Figure 9). Ceci a été observé avec tous les antigènes ($p < 0,001$) à l'exception du CS ($p = 0,345$).

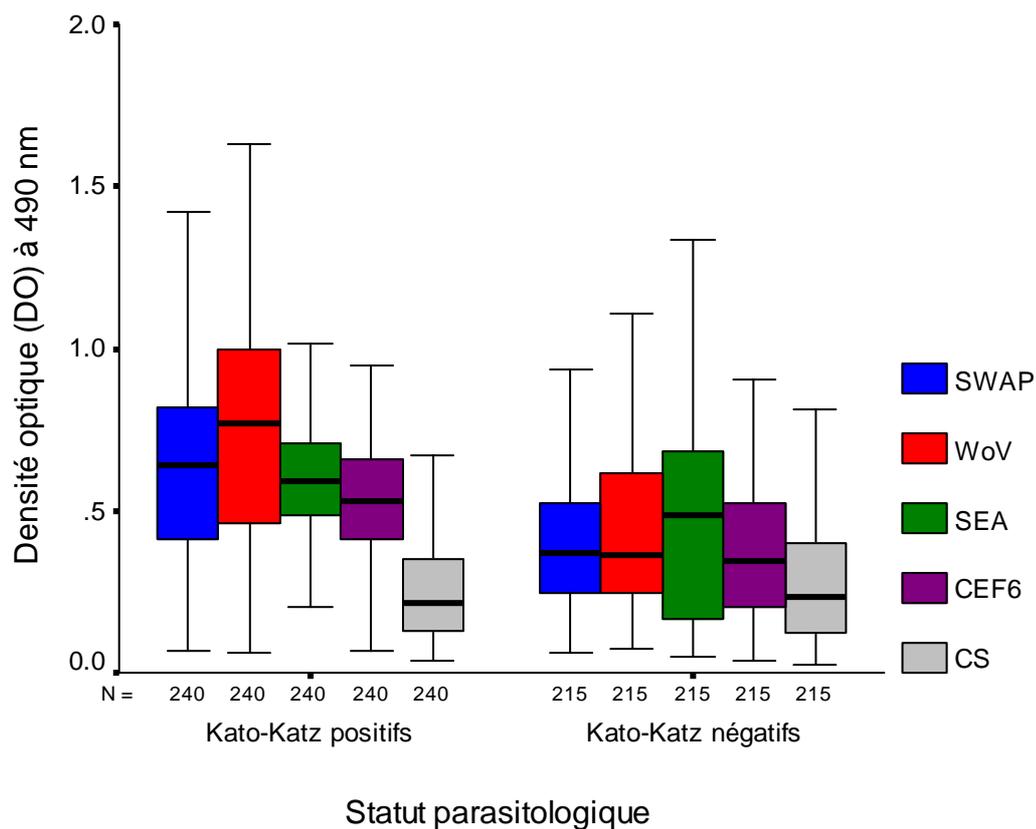


Figure 9 : Caractéristiques des densités optiques en fonction du statut parasitologique

D'une manière générale les réactivités contre les antigènes de même origine ont présenté une bonne corrélation. En effet on a observé une forte corrélation entre les réactivités anti-SEA et CEF6 d'une part (Figure 10a) et entre SWAP et WoV (Figure 10b) d'autre part. Les coefficients de Spearman étaient respectivement ($R = 0,808$; $p < 0,001$) et ($R = 0,912$; $p < 0,001$). Par ailleurs il n'y avait pas de corrélation entre les réactivités des sérums et d'autres facteurs liés aux sujets tels que l'intensité d'excrétion des œufs de parasite (Figure 10c) ou le sexe. Par contre une corrélation négative a été observée entre l'âge et la réactivité dirigée contre les sécrétions de cercaire (Figure 10d). Cette corrélation était observable aussi bien chez les sujets positifs au Kato-Katz ($R = -0,357$; $p < 0,001$) que dans l'ensemble de la population ($R = -0,098$; $p < 0,001$).

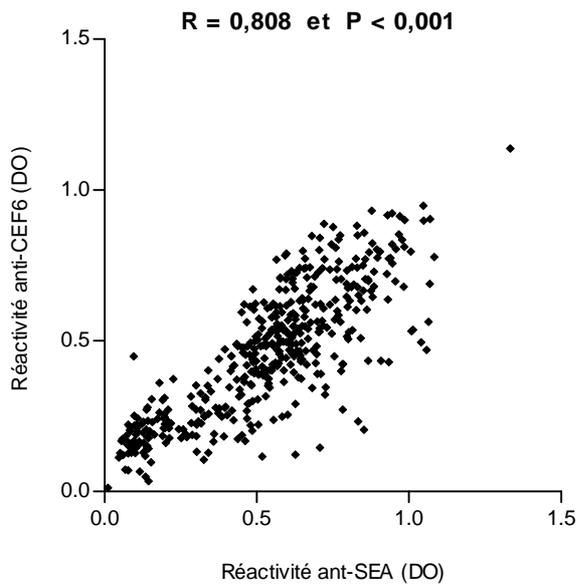


Fig. 10a : Corrélation entre SEA et CEF6

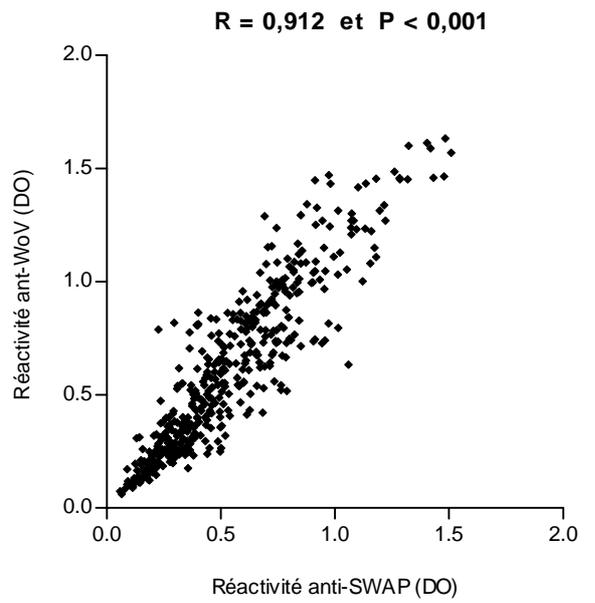


Fig. 10b : Corrélation entre SWAP et WoV

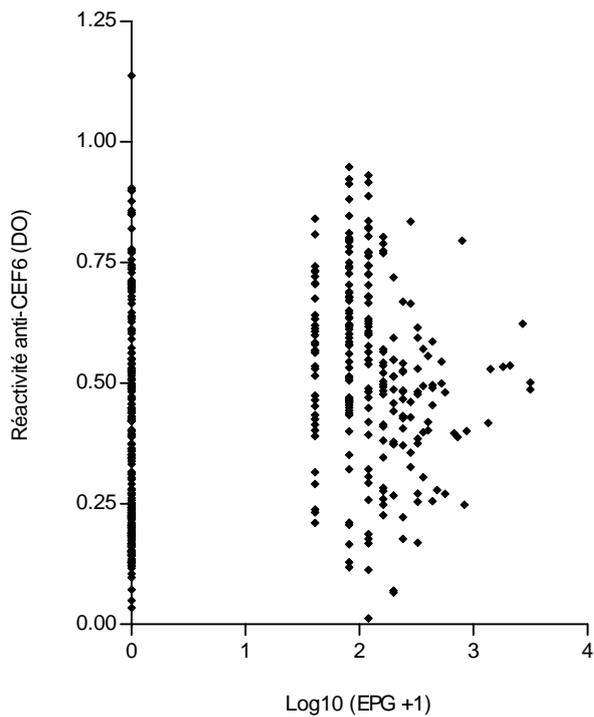


Fig. 10c : Absence de corrélation entre EPG et CEF6

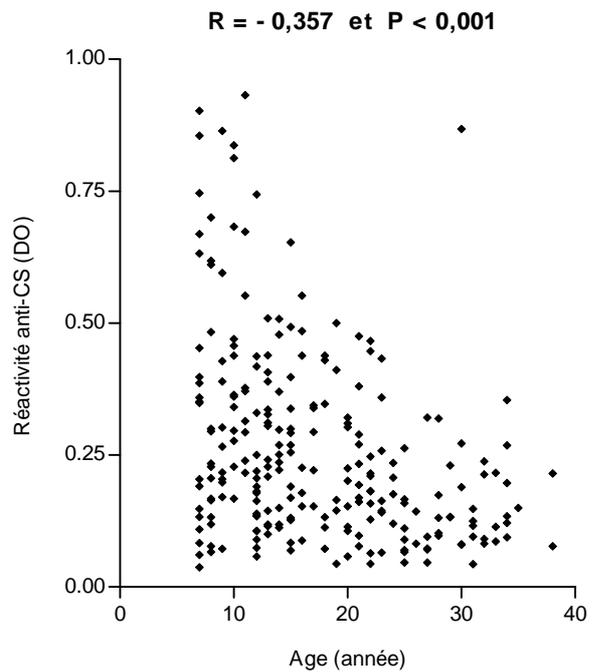


Fig. 10d : Corrélation entre age et CS

Figure 10 : Diverses corrélations observées entre les réactifs et autres paramètres.

4.2.2. Performance diagnostique des différents antigènes utilisés dans les ELISA

Afin d'évaluer le potentiel diagnostique des antigènes utilisés en ELISA, nous avons déterminé la sensibilité, la spécificité (Tableau V) et les valeurs prédictives (Tableau VI) des tests.

Tableau V : Sensibilité et spécificité des différents tests ELISA.

Test	Sensibilité		Spécificité	
	(%)	Intervalle de confiance à 95%	(%)	Intervalle de confiance à 95%
SWAP-ELISA	93,8	[89,7 – 96,3]	23,7	[18,3 – 30,1]
WoV-ELISA	94,6	[90,7 – 97,0]	21,9	[16,6 – 28,1]
SEA-ELISA	95,8	[92,2 – 97,9]	25,6	[20,0 – 32,1]
CEF6-ELISA	96,3	[92,8 – 98,2]	17,2	[12,5 – 23,1]
CS-ELISA	64,2	[57,7 – 70,2]	36,3	[29,9 – 43,1]

Dans l'ensemble toutes les sensibilités obtenues sont supérieures à 90 % excepté celle de CS (64,2 %). Une différence de 2,5 % seulement a été observée entre la grande sensibilité (CEF6-ELISA) et la plus faible (SWAP-ELISA). Mais cette différence devient importante (32,1 %) quand on compare le CEF6-ELISA et le CS-ELISA. Ces résultats montrent que le CEF6 était le plus performant en ELISA quoique la différence entre sa sensibilité et celles des autres ELISA reste assez réduite.

A l'opposé de la sensibilité, les tests ont montré des spécificités très faibles.

Tableau VI : Valeurs prédictives positives et négatives des différents tests ELISA.

Test	Valeur prédictive positive		Valeur prédictive négative	
	(%)	Intervalle de confiance à 95%	(%)	Intervalle de confiance à 95%
SWAP-ELISA	57,8	[52,8 – 62,8]	77,3	[65,0 – 86,3]
WoV-ELISA	57,5	[52,4 – 62,4]	78,3	[65,5 – 87,5]
SEA-ELISA	59,0	[53,9 – 63,9]	84,6	[73,1 – 92,0]
CEF6-ELISA	52,5	[51,5 – 61,3]	84,1	[69,3 – 92,8]
CS-ELISA	52,9	[47,0 – 58,7]	47,6	[39,8 – 55,5]

A l'image de la spécificité les valeurs prédictives positives sont toute inférieures à 60 % quelques soit l'antigène considéré. Les valeurs prédictives négatives sont par contre supérieures à 70 % sauf pour CS-ELISA (47,6 %).

Un essai de variation continue de la sensibilité par application de différentes valeurs de cut-off a permis la construction de courbes ROC (Figure 11). Ces courbes ont permis d'estimer la relation entre la sensibilité et la spécificité et de confirmer que pour une sensibilité acceptable (i.e. > 90 %), toutes les spécificités sont en dessous de 40 %. Cette faible spécificité ainsi que la faiblesse des valeurs prédictives semblent être inhérente à la méthode de calcul de ces paramètres (car ils les lient au résultat du décompte microscopique des œufs de parasite) qui sera discutée plus tard.

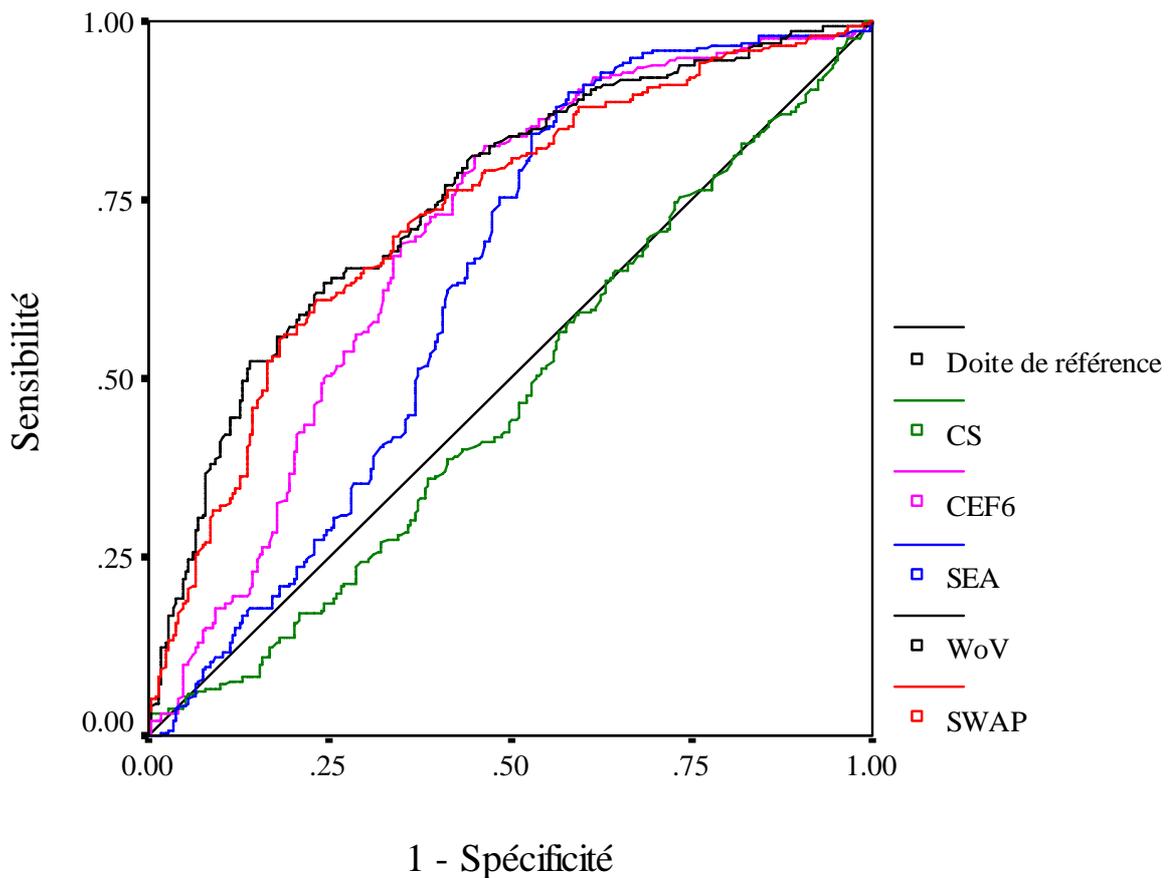


Figure 11 : Courbe ROC montrant la performance des différents antigènes en ELISA.

4.2.3. Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à *S. mansoni* dans la population d'étude

Après l'établissement des paramètres d'efficacité des tests ELISA, nous avons procédé à l'évaluation de la séroprévalence de *S. mansoni* à la Vallée du Kou. Ces prévalences varient de 64 % avec le CS à 89,9 % avec le CEF6). L'ensemble des résultats est présenté dans le Tableau VII. Les résultats ont été ensuite analysés séparément pour les individus excréant des œufs de *S. mansoni* dans les selles (Kato-Katz positif) et pour les autres qui étaient négatifs après deux examens de selles (Kato-Katz négatifs).

Dans le premier groupe, à l'exception du CS-ELISA, très peu de sujets positifs au Kato-Katz étaient négatifs à l'ELISA. En plus de ces « vrais positifs », nous avons noté l'existence dans ce groupe d'individus pouvant être considérés comme « faux négatifs ». La caractéristique de ces individus était un Kato-Katz positif et un test ELISA négatif. Leur nombre était très réduit et variable en fonction du test (Tableau VII).

Parmi les sujets Kato-Katz négatifs, plus de 70 % étaient positif en ELISA donc des « faux négatifs » dans ces tests. Les individus « vrais négatifs » (doublement négatifs aux deux types de méthode) constituaient environ 50 % de ce groupe.

Dans tout le lot de sérum analysé, 16 échantillons étaient négatifs à tous les tests. Ces cas étaient au nombre de 4 parmi les sujets Kato-Katz positifs. La recherche de facteurs particuliers pouvant justifier cette absence de réactivité sérologique (surtout pour les 4 cas avec Kato-Katz positifs) a été négative. En effet des facteurs tels que l'âge ou le sexe ne les distinguaient des autres sujets.

A l'instar du profil parasitologique, la séroprévalence de la schistosomiase dans les différents groupes d'âge reste élevée jusqu'à l'âge de 25 ans sans décroissance notable. Cela a été observé avec tous les antigènes à l'exception des sécrétions de cercaire qui présentent une décroissance continue de la prévalence à partir du groupe de 19 ans (Figure 12).

Tableau VII : Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à *Schistosoma mansoni* à la Vallée du Kou à partir de différents antigènes parasitaires.

Test	Population entière (n = 455)		Sujets positifs au Kato-Katz (n = 240)		Sujets négatifs au Kato-Katz (n = 215)	
	Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs	Positifs	Négatifs
SWAP-ELISA	389 (85,5 %)	66 (14,5 %)	225 (93,8 %)	15 (6,3 %)	164 (76,3 %)	51 (23,7 %)
WoV-ELISA	395 (86,8 %)	60 (13,2 %)	227 (94,6 %)	13 (5,5 %)	168 (78,1 %)	47 (21,9 %)
SEA-ELISA	390 (85,7 %)	65 (14,3 %)	230 (9,8 %)	10 (4,2 %)	160 (74,4 %)	55 (25,6 %)
CEF6-ELISA	409 (89,9 %)	46 (10,1 %)	231 (96,3 %)	9 (3,8 %)	178 (82,8 %)	37 (17,2 %)
CS-ELISA	291 (64,0 %)	164 (36,0 %)	154 (64,2 %)	86 (35,8 %)	137 (67,7 %)	78 (36,3 %)

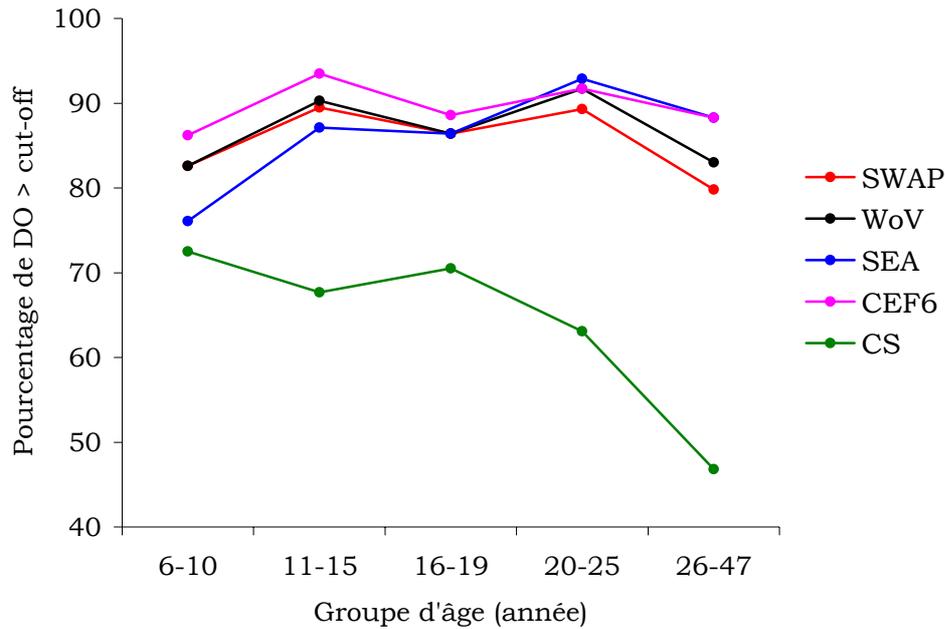


Figure 12 : Séroprévalence de la schistosomiase intestinale à *Schistosoma mansoni* en fonction des groupes d'âge à la Vallée du Kou.

Vu le fait que tous les tests sérologiques présentés ci-dessus (exception faite de SjiHA et de CS-ELISA) avaient une bonne sensibilité et dans une optique d'utilisation à grande échelle, nous avons cherché à savoir si une combinaison de deux tests améliorerait la détection des sujets positifs au Kato-Katz. Les données ont été analysées dans un modèle de screening séquentiel. Ainsi les sérums négatifs avec un test donné sont analysés avec un second test et on procède au calcul de l'apport en terme de nombre de sujets positifs détectés en plus (Tableau VIII). Le résultat final (une amélioration) dépend surtout de la performance du premier test réalisé.

Les résultats indiquent qu'une amélioration considérable ($\approx 50\%$) n'est obtenue qu'avec le CS-ELISA en première intention ce qui reflète sa faible sensibilité. Tous les autres antigènes ont conduit à des améliorations assez modérées en combinaison. Ceci est le cas lorsque le premier test est une haemagglutination indirecte ($\approx 13\%$). Toutes les autres combinaisons résultent en des améliorations de l'ordre de 1 à 4 %.

Tableau VIII : Model de calcul du potentiel d'amélioration de la détection des sujets excréteurs d'œufs de parasites : les sérums négatifs lors du premier test sont re-analysés avec les seconds tests.

	Premier test : effectué avec des sérum de sujets ayant Kato-Katz positif		Second test : effectué sur les sérums négatifs lors du premier test			Combinaison des deux tests : nombre de positifs	Amélioration due au second test (%)
	Positifs	Négatifs		Positifs	Négatifs		
Sm-IHA	205	35	SWAP-ELISA	27	8	232	13,2
Sm-IHA	"	"	WoV-ELISA	28	7	233	13,6
Sm-IHA	"	"	SEA-ELISA	27	8	232	13,2
Sm-IHA	"	"	CEF6-ELISA	28	7	233	13,6
Sm-IHA	"	"	CS-ELISA	22	13	227	10,7
SWAP-ELISA	225	15	WoV-ELISA	2	13	207	0,9
SWAP-ELISA	"	"	SEA-ELISA	9	6	234	4,0
SWAP-ELISA	"	"	CEF6-ELISA	9	6	234	4,0
SWAP-ELISA	"	"	CS-ELISA	6	9	211	2,7

WoV-ELISA	227	13	SWAP-ELISA	0	13	227	0
WoV-ELISA	"	"	SEA-ELISA	8	5	235	3,5
WoV-ELISA	"	"	CEF6-ELISA	7	6	234	3,1
WoV-ELISA	"	"	CS-ELISA	5	8	232	2,2
SEA-ELISA	230	10	SWAP-ELISA	4	6	234	1,7
SEA-ELISA	"	"	WoV-ELISA	5	5	235	2,2
SEA-ELISA	"	"	CEF6-ELISA	2	8	232	0,9
SEA-ELISA	"	"	CS-ELISA	4	6	234	1,7
CEF6-ELISA	231	9	SWAP-ELISA	3	6	234	1,3
CEF6-ELISA	"	"	WoV-ELISA	3	3	234	1,3
CEF6-ELISA	"	"	SEA-ELISA	1	8	232	0,4
CEF6-ELISA	"	"	CS-ELISA	4	5	235	1,7
CS-ELISA	154	86	SWAP-ELISA	77	9	231	50,0
CS-ELISA	"	"	WoV-ELISA	78	8	232	50,6
CS-ELISA	"	"	SEA-ELISA	80	6	234	51,9
CS-ELISA	"	"	CEF6-ELISA	81	5	235	52,6

4.2.4. Séroprévalence de *S. mansoni* dans la population d'étude après traitement

Les analyses sérologiques réalisées sur les sérums collectés 7 semaines après le traitement ont montré une augmentation des valeurs de densités optiques au dessus du cut-off chez tous les sujets (Figure 13). Tous les sérums tests étaient positifs même en l'absence d'une excrétion d'œufs de parasite.

Ceci indique que le délai de 7 semaines n'est pas approprié pour le contrôle sérologique.

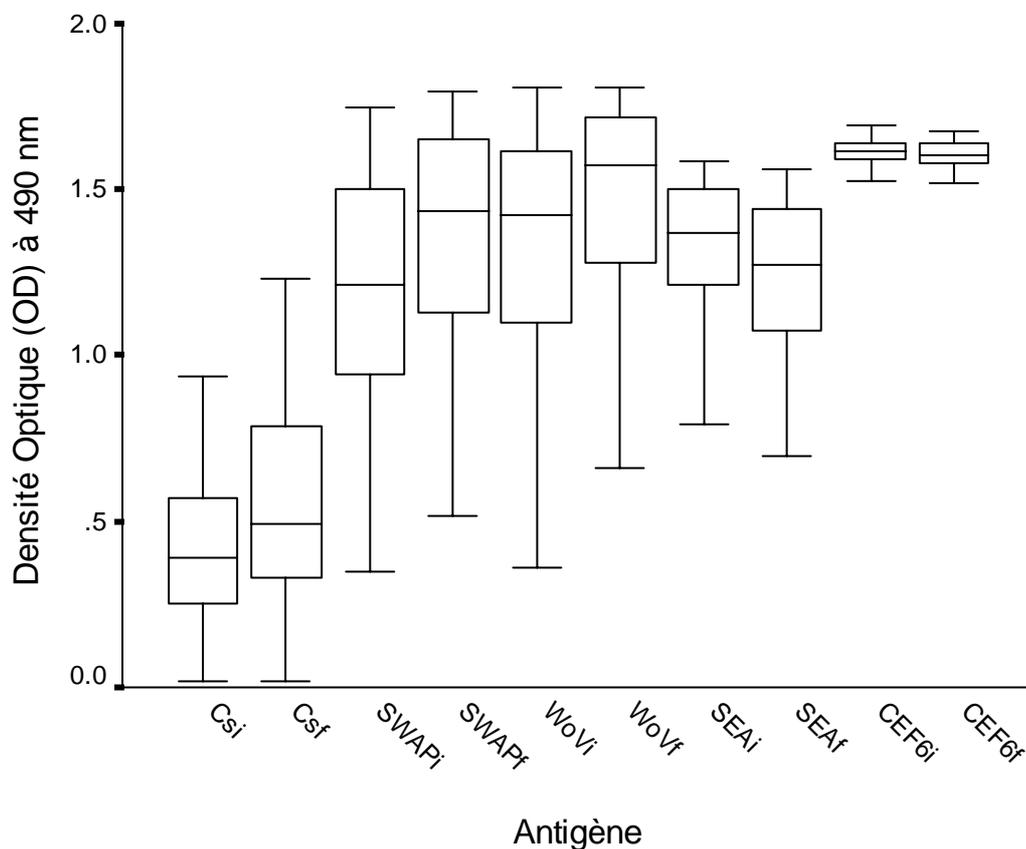


Figure 13 : Caractéristique des densités optiques obtenues avant et après traitement chez des sujets positifs. (La lettre i indique les valeurs initiales avant traitement et la lettre f indique celles finales après traitement).

4.3. Résultats des tests d'Immunofluorescence indirecte

Un sous échantillon de 100 sérums a été sélectionné de manière aléatoire dans le lot de sérums disponibles pour l'analyse en IFAT. La raison ayant conduit à ce sous échantillonnage est la lourdeur de la méthode elle-même et la disponibilité de matériel biologique (sections cryostatées de parasite) qui limite son utilisation pour un screening à grande échelle. Le groupe sélectionné était composé de 59 sujets positifs au Kato-Katz et 41 négatifs.

Une fluorescence positive a été obtenue avec 98 % des sérums utilisés dont 95 % du type parenchymateux et 66 % de type focal mais la plus part des sérums cumulaient les deux types de fluorescence (Figure 14). Si l'on considère le statut parasitologique des sujets, il en ressort que 56 sérums (95 %) du groupe Kato-Katz positif ont réagi positivement avec le parenchyme parasitaire et 76,3 % ont montré une fluorescence focale. Dans le second groupe aussi, 95 % des sérums présentaient une fluorescence positive avec le parenchyme contre 51 % de fluorescence focale positive.

Compte tenu du fait que nous avons procédé à une seconde sélection des sérums pour les tests IFAT, nous n'avons pas jugé pertinent de procéder à des calculs de sensibilité pour cette méthode.

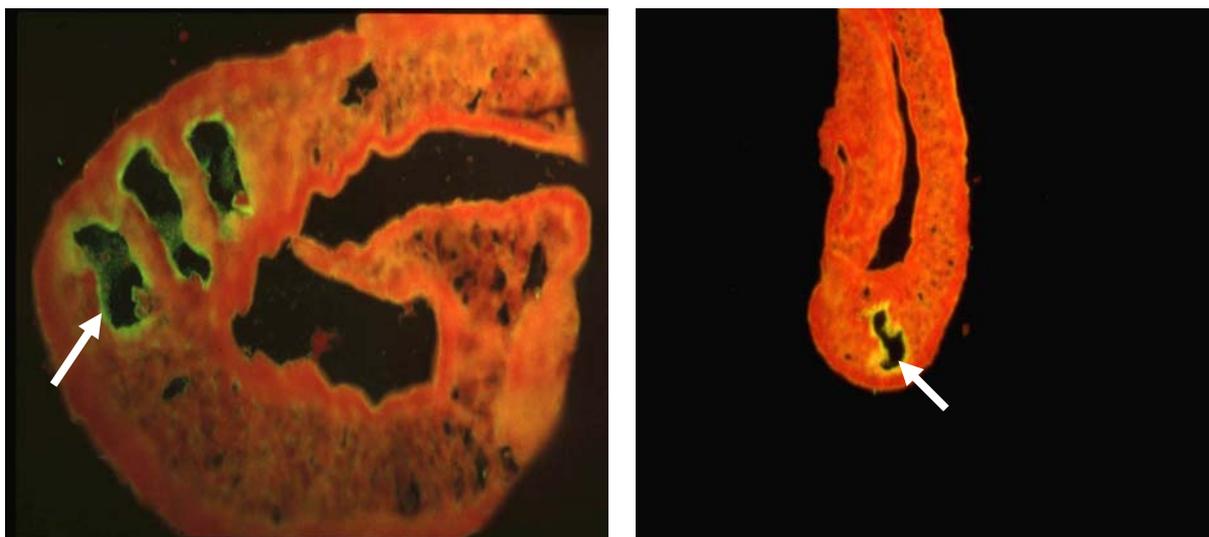


Fig. 14a : Fluorescence focale liée à l'intestin du parasite

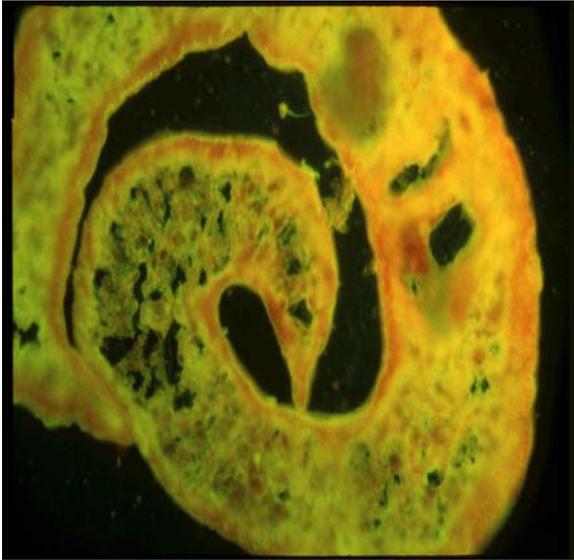


Fig. 14b : Fluorescence liée au parenchyme parasitaire

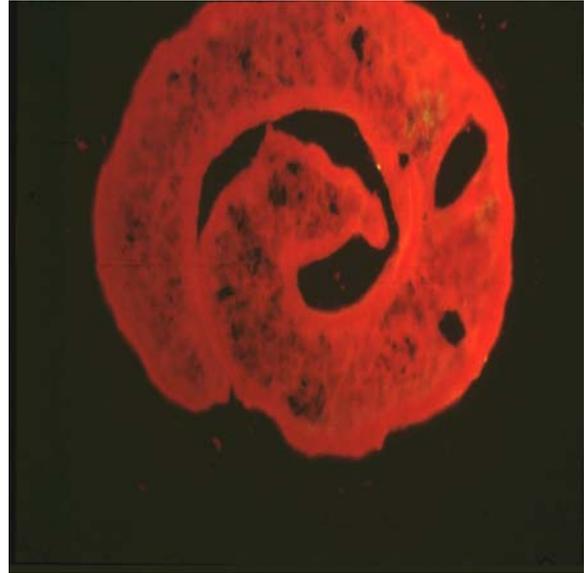


Fig. 14c : Echantillon négatif montrant une fluorescence rouge

Figure 14 : Différents types de fluorescence obtenus en appliquant la Fluoline-H globuline-anti-IgG conjugué à de la fluoresceine-isothiocyanate (FITC) sur des sections de parasite préalablement incubées avec des sérums de sujets provenant de la Vallée du Kou.



Chapitre IV :

DISCUSSION



CHAPITRE IV : DISCUSSION

1. LES RESULTATS PARASITOLOGIQUES.

1.1. L'endémie bilharzienne dans les zones d'étude.

L'impact des schistosomiasés sur la santé humaine en terme de morbidité demeure une préoccupation majeure de part le monde (VENNERVALD et DUNNE, 2004) et surtout dans les pays au Sud du Sahara (VAN DER WERF *et al.*, 2003 ; KING *et al.*, 2005). Aussi dans le contexte mondial actuel, marqué par une volonté de dynamiser la lutte contre ces helminthiases, il est plus que nécessaire d'évaluer de manière précise leur niveau de prévalence et de morbidité (BERGQUIST, 2002) surtout dans les espaces à grand risque connus tels que les hydro-aménagements afin de mieux orienter les stratégies de lutte. Au Burkina Faso, un ensemble d'études ont été entreprises depuis la fin des années 1990 en vue d'identifier et de caractériser les foyers de schistosomiasé dans le pays. Ainsi plusieurs foyers endémiques ont été caractérisés surtout ceux liés aux aménagements hydro-agricoles (CAMPAGNE *et al.*, 1998 ; GARBA *et al.*, 1999 ; PODA *et al.*, 2001a, 2001b, 2004b). Par ailleurs, l'ampleur précise des schistosomiasés surtout la forme intestinale dans la région Ouest reste assez méconnue. Quand des données existent, elles sont vieilles d'au moins deux décennies. Il y avait alors une réelle nécessité de mettre à jour les données dans ce domaine justifiant ainsi la présente étude.

La présente étude a concerné un assez grand nombre de sujets (1185) des deux sexes et d'âge couvrant la frange active des populations (6 à 47 ans) pour permettre une bonne évaluation de la prévalence de ces parasitoses dans les régions concernées. Aussi deux lames de Kato-Katz ont été réalisées dans la même semaine (dans les cas où la première était négative) avant de déclarer un sujet non infecté. Cependant d'autres auteurs (DE VLAS et GRYSEELS, 1992 ; KONGS *et al.*, 2001) ont montré que plus de deux examens de Kato-Katz sont souvent nécessaires pour détecter une infection par *S. mansoni*. Dans la présente situation, deux échantillons de selles et d'urine semblent être la limite

acceptable aussi bien au niveau des populations que des ressources humaines et techniques.

1.1.1. *Schistosoma haematobium*

La filtration des urines a apporté la preuve de l'existence d'un foyer hypoendémique (18,8 %) à *S. haematobium* dans la localité de Banzon. En effet la présente étude constitue la première preuve documentée (à notre connaissance) de la présence de ce parasite dans cette localité. Sa fréquence était significativement plus élevée chez les hommes comparativement aux femmes. Aussi a-t-on observé une décroissance de la prévalence avec l'âge dans la population et une prédominance des infections à intensité moyenne. En somme, le profil de la schistosomiase urinaire au niveau de ce site est similaire à celui décrit dans une autre zone aménagée du pays comme le Sourou (PODA *et al.*, 2001a).

Nos résultats révèlent une disparition presque totale de *S. haematobium* à la Vallée du Kou. En effet sur l'ensemble des échantillons d'urines examinés dans ce village, seuls trois, contenaient des œufs de *S. haematobium* après deux examens. Pourtant il y a 20 ans, cette région avait été décrite comme une aire de sympatrie pour *S. haematobium* et *S. mansoni*. Des prévalences allant de 14 % (SANSARRICQ, 1959) à 80 % (TROTOBAS, 1977) ont été rapportées à la Vallée du Kou et ses environs (ensemble avec *S. mansoni*) par ces auteurs. Des situations similaires, marquées par une baisse progressive de la prévalence de *S. haematobium* et une augmentation de celle de *S. mansoni* dans des foyers mixtes, ont été décrites en Egypte (ABDEL-WAHAB, 1979, 1993) ; mais les causes précises de ce phénomène demeurent encore un sujet à débat. Certains auteurs ont évoqué des changements des conditions environnementales très souvent défavorables aux mollusques hôtes intermédiaires de *S. haematobium* (ABDEL-WAHAB, 1979, 1993 ; EL-KHOBY *et al.*, 2000). Par ailleurs des phénomènes de compétition inter espèces entraînant l'élimination progressive de *S. haematobium* et son remplacement par *S. mansoni*, ont été aussi évoqués (ERNOULD, 1996). Un exemple bien

documenté d'exclusion compétitive est celui de *S. intercalatum* (TCHUEM TCHUENTE *et al.*, 1996, MORAND *et al.*, 2002). En effet il a été démontré que *S. haematobium* aussi bien que *S. mansoni* ont une force reproductrice dominante sur celle de *S. intercalatum* (COSGROVE et SOUTHGATE, 2003 ; TCHUEM TCHUENTE *et al.*, 1993, 1995) si bien que ce dernier voit son aire de répartition réduite en Afrique centrale (TCHUEM TCHUENTE *et al.*, 2003).

A la Vallée du Kou, les dernières études rapportant la présence de *S. haematobium* datent de 1980. Et aucun changement notable de l'environnement n'est intervenu depuis la mise en place de l'aménagement en 1968. Des investigations malacologiques et parasitologiques plus détaillées sont donc nécessaires pour confirmer la régression de la prévalence de *S. haematobium* notée dans la présente étude.

1.1.2. *Schistosoma mansoni*

A la différence de la schistosomiase urinaire, la schistosomiase intestinale à *S. mansoni* a été notifiée aussi bien à Banzon qu'à la Vallée du Kou. La prévalence de l'infection était deux fois plus élevée à la Vallée du Kou qu'à Banzon.

Le profil de l'endémie bilharzienne était similaire dans les deux sites. Seuls les niveaux de prévalence différaient. Ainsi la schistosomiase intestinale était plus endémique à la Vallée du Kou qu'à Banzon., mais les hommes étaient significativement plus infectés que les femmes ($p < 0,001$) dans les deux villages. En plus il semble exister une différence du niveau d'exposition entre les deux sites. Nous avons en effet observé une différence significative de la prévalence de *S. mansoni* entre les sujets travaillant ou pas dans les parcelles irriguées à la Vallée du Kou ($p = 0,023$) et non à Banzon ($p = 0,532$). L'intensité du parasitisme par contre était similaire dans les deux sites et était caractérisée par une prédominance des charges parasitaires moyennes.

Comparativement à d'autres foyers bilharziens décrits au Burkina (PODA *et al.*, 2004b), l'évolution de l'endémie dans les foyers décrits ici semble plus stable. Dans la plaine aménagée du Sourou par exemple, une augmentation de

la prévalence de *S. mansoni* de plus de 50 % a été observée en deux ans dans plusieurs villages (PODA *et al.*, 2004a). Pourtant dans nos sites (particulièrement à la Vallée du Kou), après au moins deux décennies d'irrigation les prévalences restent en dessous de 50 %. Ceci laisse penser que l'effet amplificateur de la transformation de l'environnement sur l'endémie bilharzienne (PODA *et al.*, 2003) est plus effective dans les premières années qui suivent ces transformations et se stabiliserait avec le temps. Bien sûr, nous ne disposons pas de données sur le moment précis de l'introduction de *S. mansoni* dans les sites de Banzon ; et de la Vallée du Kou. Mais ils se situent dans la niche écologique naturelle du parasite au Burkina Faso (PODA *et al.*, 1994) si bien que nous pouvons supposer une existence du parasite dans la région avant l'aménagement. Des études de la susceptibilité des hôtes intermédiaires et des parasites en présence ; et de la réaction immunitaire des populations humaines (hôtes définitifs) sont nécessaires pour mieux appréhender la dynamique de la transmission dans ces foyers.

Dans l'ensemble le profil de l'infection par les deux formes de schistosomiase observé dans nos sites tel que décrit plus haut, correspond au profil classique de la schistosomiase couramment rapporté dans d'autres foyers au Burkina Faso (PODA *et al.*, 2001a, 2000b, 2004a) et ailleurs en Afrique (GRYSEELS et NKULIKYNKA, 1988 ; DE CLERCQ *et al.*, 1999 ; ARYEETAY *et al.*, 2000 ; EL-KHOBY *et al.*, 2000). Plusieurs théories ont été avancées pour expliquer le profil de la prévalence et de l'intensité de l'infection par les schistosomes dans les populations humaines. Chacune de ces théories met en exergue le rôle prédominant de l'un ou l'autre des facteurs associés à l'hôte définitif dans la modulation de l'incidence du parasite dans l'échelle des âges. Mais il semble que ce profil de l'infection dans les populations soit la résultante de plusieurs facteurs liée à l'interaction entre le parasite et l'hôte humain. Ainsi si une réduction de l'exposition au fur et à mesure que l'enfant grandit contribue à cette décroissance de la prévalence (BRADLEY, 1972 ; WARREN, 1973 ; TAKOUGANG *et al.*, 1993), d'autres facteurs biologiques tels que la réponse immunitaire de l'hôte (résistance à la réinfection) (WOOLHOUSE, 1998), la présence de gènes de résistance (DESSEIN *et al.*, 1999 ; BETHONY *et al.*, 2002) concourent pour expliquer le profil de la schistosomiase dans les

populations humaines. De plus en plus, des preuves sont apportées montrant l'implication de facteurs physiologiques notamment hormonaux (testostérone, dehydroépiandrosterone) (FULFORD *et al.*, 1998 ; ABEBE *et al.*, 2003 ; KASILIMA *et al.*, 2004) dans la réduction de la prévalence de la schistosomiase.

1.2. Effet du traitement au praziquantel

Des taux de négativation supérieurs à 80 % ainsi que des taux de réductions importantes de l'excrétion des œufs de parasite ont été obtenus dans les deux sites après l'administration d'une dose unique de praziquantel à 40 mg.kg⁻¹ chez les sujets infectés avec l'un ou l'autre espèce de parasites. Ces taux sont similaires aux résultats d'autres études réalisées en Afrique de l'Ouest (OFOEZIE *et al.*, 2000 ; UTZINGER *et al.*, 2000 ; N'GORAN *et al.*, 2003 ; RASO *et al.*, 2004) et ailleurs (FENWICK *et al.*, 2003). L'inconvénient majeur de l'utilisation du praziquantel est son manque d'efficacité contre les schistosomes immatures (GÖNNERT et ANDREWS, 1977 ; XIAO *et al.*, 1985 ; SABAH *et al.*, 1986). En effet la sensibilité des schistosomes au praziquantel présente un profil biphasique très typique (CIOLI et PICA-MATTOCIA, 2003). Tous les stades larvaires, de la cercaire au schistosomule de quelques jours sont sensibles à cette molécule. Il s'en suit une insensibilité croissante au praziquantel qui atteint son maximum chez les parasites de 3 à 4 semaines. A partir de cet âge, on a une réapparition de la sensibilité qui est aussi croissante et totale chez les adultes de 6 à 7 semaines. La conséquence directe de cela est l'impossibilité d'avoir une efficacité de 100 % lors des traitements en zone d'endémie. Dans ces zones où la transmission est active, les sujets sont infectés par des parasites qui sont à différents stades de leur développement au moment du traitement. Seuls les vers adultes seront donc éliminés après un unique traitement. Cela semble avoir été la cause de la baisse de sensibilité au praziquantel rapporté au Sénégal (FALLON *et al.*, 1995 ; STELMA *et al.*, 1995, 1997 ; ERNOULD *et al.*, 1999). Après d'intenses investigations on est arrivé à la conclusion qu'un niveau de transmission exceptionnellement élevé était la cause de cette baisse de sensibilité de *S. mansoni* au praziquantel dans ce foyer

(GRYSEELS *et al.*, 2001 ; DANSO-APPIAH et DE VLAS, 2002). Pourtant l'existence de souches de *S. mansoni* résistantes au praziquantel provenant du Sénégal et aussi d'Égypte a été démontrée *in vitro* et *in vivo* (ISMAIL *et al.*, 1996, 1999 ; LIANG *et al.*, 2001). Ceci met à jour la nécessité d'une surveillance continue de l'effet du praziquantel surtout dans les régions où il y a des programmes de traitement de masse. Une avancée importante a été réalisée dans ce sens récemment avec le développement d'une méthode de détection rapide de parasites résistants au praziquantel (LIANG *et al.*, 2000 ; KENWORHTY *et al.*, 2003). Cette méthode est basée sur la propriété du praziquantel à induire un changement de la forme des miracidia fraîchement éclos. Une telle méthode serait d'une grande utilité pour apprécier le niveau de sensibilité au praziquantel des schistosomes au Burkina Faso.

2. LES RESULTATS SEROLOGIQUES

Les différents tests sérologiques utilisés ont permis la détection des infections causées par *S. mansoni* avec des sensibilités variables en fonction du type de test et de l'antigène.

2.1. L'haemagglutination indirecte

L'IHA à base d'homogénat d'œufs de *S. japonicum* (SjIHA) avait la sensibilité la plus faible de tous (56,3 %). Pourtant cette approche qui est fondée sur la réaction croisée entre antigènes de différentes espèces de schistosomes était justifiée. En effet des études ont clairement démontré que plusieurs protéines des trois espèces de schistosomes infectant l'humain présentaient une réaction croisée (NORDEN et STRAND, 1984 ; TSANG *et al.*, 1984 ; RUPPEL *et al.*, 1987 ; GUI *et al.*, 1991). Aussi GUI *et al.* (1991) dans une approche similaire ont rapporté une sensibilité de 93 % avec des sérums de sujets Africains infectés par *S. mansoni* ou *S. haematobium*. Parmi les facteurs pouvant justifier nos résultats nous pouvons citer entre autre la différence

entre les protocoles de préparation des antigènes et de coating des globules rouges.

L'IHA à base d'homogénat de vers adultes de *S. mansoni* (Sm-IHA) par contre avait une sensibilité nettement supérieure à celle du Sj-IHA (85,4 %). Néanmoins la performance du Sm-IHA demeure inférieure à celle des ELISAs et aussi celle obtenue par d'autres auteurs (GUI *et al.*, 1991 ; VAN GOOL *et al.*, 2002). Ceci semble indiquer l'existence d'une variabilité des tests suivant les conditions. VAN GOOL *et al.* (2002) ont rapporté une sensibilité de 88 à 94,7 % en utilisant le Sm-IHA pour la détection de la schistosomiase intestinale importée par des touristes revenant de zones endémiques.

Aussi le développement de test IHA à base d'œufs de *S. mansoni* devrait permettre d'améliorer la sensibilité de cette technique.

2.2. Les tests ELISA

2.2.1. La réactivité des sérums

Un grand nombre de sérums (455) a été testé pour leurs réactivités vis à vis de cinq différents types de préparations antigéniques provenant de trois stades différents de *S. mansoni*. Les densités optiques obtenues pour chaque antigène sont assez large mais leurs valeurs moyennes étaient assez proches (Figure 8). Quoique nous n'ayons pas pu mettre en évidence une corrélation entre les résultats sérologiques (densité optique) et parasitologiques (décompte du nombre d'œufs excrétés), nous avons observé que la présence d'une infection active résultait en une réactivité significativement plus élevée (Figure 9) que celle observée en l'absence d'une infection active. Pourtant des études antérieures ont rapporté l'existence d'une corrélation entre réaction immunologique et excrétion d'œufs (MOTT et DIXON, 1982 ; VAN DAM *et al.*, 1996 ; DOENHOFF *et al.*, 1993, 2003) particulièrement chez les enfants de moins de 10 ans. L'existence de corrélation entre le taux d'anticorps et l'excrétion des œufs du parasite permet de penser qu'il serait possible d'établir

une relation mathématique entre un niveau d'anticorps et l'intensité de l'infection ; mais cela reste encore à établir.

Notre étude a permis de mettre en évidence une corrélation négative entre l'âge et la réaction anti-CS (Figure 10d), ce qui n'a jamais été observée. Cette observation en effet suggère une diminution de l'exposition aux cercaires chez les sujets de grand âge. Mais nous pensons que des études d'exposition combinées à une estimation de la réponse immunologique dirigée contre cet antigène sont nécessaires pour sa confirmation.

2.2.2. Performance diagnostique des antigènes utilisés en ELISA

En dehors de la CS-ELISA, tous les tests ELISAs ont présenté des sensibilités supérieures à 90 %. Dans ce domaine du diagnostic par ELISA, plusieurs antigènes parasitaires ont été utilisés au fil des années (KELSOE et WELLER, 1978 ; McLAREN *et al.*, 1978 ; MOTT et DIXON, 1982 ; HAMILTON *et al.*, 1998). De ces études, il ressort que les antigènes dérivés des œufs de parasite (SEA et CEF6) semblent être les plus performants (MOTT et DIXON, 1982 ; DUNNE *et al.*, 1984 ; DOENHOFF *et al.*, 1993). Nos résultats tout en confirmant cette tendance (SORGHO *et al.*, 2005), ont en plus montré que des préparations dérivées du vers adulte (WoV) pouvaient avoir une performance très proche de celle d'antigènes purifiés tels que CEF6.

Sur la base de la sensibilité des différents tests, nous pouvons conclure que l'application d'un seul test ELISA de préférence utilisant un antigène à base d'œufs de parasite permettrait d'identifier le maximum de sujets infectés et qu'un screening additionnel n'améliore pas le rendement de manière substantielle en terme de sensibilité ou en terme de coût.

Il est important de noter qu'un nombre très réduit de sujets (5) excrétaient des œufs de *S. mansoni* dans les selles sont restés indétectables avec tous les tests sérologiques utilisés. Ceci pourrait s'expliquer par la présence de pathologie immunosuppressive conduisant à une inhibition de la capacité de réaction chez ces sujets.

Parmi les antigènes utilisés dans notre étude, le WoV et le CS sont utilisés pour la première fois à titre expérimental (BAHGAT *et al.*, 2005). La nature exacte du WoV reste inconnue mais cette préparation contient sans doute plusieurs enzymes digestives (CAFFREY et RUPPEL, 1997 ; CAFFREY *et al.*, 2004) et d'autres protéines de sécrétion (CUTTS et WILSON, 1997). CUTTS et WILSON ont après transfert chirurgical de schistosomes adultes chez un hôte naïf, et analysé les protéines sécrétées par le parasite et ont décrit au moins 12 types de protéines de 18 à 128 kDa. Il est aussi important de noter que le WoV utilisé ici, a été préparé dans de l'eau distillée. Ceci implique que nous ne pouvons pas exclure la présence de protéines de tégument en plus des autres protéines ci-dessus citées.

Le CS est un produit de sécrétion de la glande acétabulaire de la cercaire et contient un cocktail d'enzymes intervenant dans le processus de pénétration de ce dernier (McKERROW et SALTER, 2000). Si la nature protéique de ces sécrétions est connue, l'identité du composant responsable de la réaction immune de l'hôte reste non déterminée. En effet les « elastases » ont été pendant longtemps désignées comme étant les responsables de la forte réaction immune induite après la pénétration (PINO-HEISS *et al.*, 1986 ; TOY *et al.*, 1987 ; PRICE *et al.*, 1997 ; RAMZY *et al.* 1997) mais des études récentes ont clairement démontré que l'infection induisait des anticorps d'autres composants excepté les « elastases » (BAHGAT *et al.*, 2001 ; HARROP *et al.*, 2000).

L'évaluation de la performance diagnostique a montré que le WoV avait une sensibilité aussi élevée que celle des antigènes d'œuf (SEA, CEF6). Cela est sans doute lié au fait que WoV contient du matériel provenant de l'intestin contre lequel est dirigé les anticorps pendant la phase aiguë (RUPPEL *et al.*, 1985a) mais aussi au stade chronique (RUPPEL *et al.*, 1985b ; LI *et al.*, 2004).

Les sécrétions de cercaires par contre ont montré une faible performance en ELISA pour la détection des infections dues à *S. mansoni* (64,2 %). Cette sensibilité est de loin inférieure à celle rapporté par RAMZY *et al.* (1997) qui ont rapporté une sensibilité de 83 % dans une étude séroépidémiologique utilisant des sécrétions purifiées de cercaires. Il est généralement admis que la contribution des antigènes de cercaires dans la réaction immune de l'hôte

semble bien inférieure à celle induite par les antigènes de vers adultes. Cela a été prouvé par les essais de vaccination utilisant des cercaires irradiés (RUPPEL *et al.*, 1895b). Aussi la non disponibilité des sécrétions de cercaires pendant de longues périodes contribuerait à réduire la possibilité d'avoir une réaction efficace. En effet la cercaire en pénétrant, sécrète activement des enzymes protéolytiques capables d'induire la production d'anticorps mais cette sécrétion ne dure guère plus de 72 heures (STIREWALT, 1974 ; McKERROW *et al.*, 1983).

Un autre apport de notre étude non moins important, est la mise en évidence d'une corrélation négative entre la réponse anti-CS et l'âge des sujets (BAHGAT *et al.*, 2005). Cela suggère une décroissance de l'exposition avec l'âge ; ce qui est en contradiction avec les résultats de RAMZY *et al.* (1997) qui ont noté une augmentation de la réactivité dirigée contre les sécrétions de cercaires de *S. mansoni* chez des sujets d'âge allant de 2 à 20 ans dans leur population d'étude. Cela pose encore le problème de l'identité du composant responsable de la réaction. Néanmoins il n'y a aucun doute que l'antigène utilisé par Ramzy et ses collègues et la préparation utilisée dans la présente étude se recourent sur le plan antigénique.

L'identification de la nature de la substance induisant une réaction immune dans les premiers instants de l'infection revêt une importance épidémiologique capitale dans la mesure où celle-ci peut être utilisée comme marqueur d'exposition aux cercaires. Une approche de résolution de ce problème pourrait être le screening d'une banque de cDNA de cercaire ou de sporocystes avec du sérum de jeunes enfants réagissant avec le CS. Aussi on pourrait utiliser du sérum de souris infectées avec des cercaires irradiées à dose létale.

Les spécificités ainsi que les valeurs prédictives des tests sérologiques (ELISA et IHA) calculées selon la définition et la formule standard (RABELLO, 1997 ; HAMILTON *et al.*, 1998) a abouti à des valeurs très faibles dans notre étude. Pourtant dans une étude multicentrique, MOTT et DIXON (1982) ont rapporté des spécificités d'au moins 90 % pour le SEA- et le CEF6-ELISA. Celle du SWAP-ELISA était comprise entre 80 et 90 %. Des spécificités faibles avec des valeurs de sensibilité très élevées sont souvent observées dans les études

de détection de la schistosomiase intestinale à base d'anticorps (DOENHOFF *et al.*, 1993 ; RABELLO, 1997). Parmi les raisons évoquées pour expliquer cela figurent : la sensibilité de la méthode de référence, la possibilité de réaction croisée avec d'autres helminthes, la présence de mono-infection ou la persistance d'anticorps anti-schistosomes après traitement. Le mode de calcul de la spécificité requiert que les individus séro-négatifs soient vraiment non infectés par le parasite. Cependant, il est reconnu que la méthode de référence qui est le Kato-Katz sous-estime la prévalence de la schistosomiase intestinale, particulièrement dans les cas de pauciparasitisme (DE VLAS et GRYSEELS, 1992 ; ENGELS *et al.*, 1997 ; KONGS *et al.*, 2001 ; UTZINGER *et al.*, 2001). Aussi les foyers bilharziens décrits dans notre étude étaient caractérisés par la prédominance des infections « légères » ($EPG < 101$) et « modérées » ($100 < EGP < 401$). Ceci implique qu'un grand nombre de sujets portant ces types d'infection ne sont pas détectés augmentant ainsi le nombre des « faux négatifs ». Tout cela contribue à abaisser la valeur de la spécificité des tests sérologiques. Une multiplication du nombre d'échantillons de selles examinés aurait sans doute réduit ce facteur. En effet BOOTH *et al.* (2003) ont montré que la performance de la méthode de Kato-Katz s'accroît au fur et à mesure que l'on accroît le nombre d'échantillons de selles examinés. Aussi il a été montré que la spécificité des tests sérologiques croît généralement au fur et à mesure que l'on multiplie le nombre d'échantillons de selles examinés dans le test de référence (RUIZ-TIBEN *et al.*, 1979).

Certains auteurs ont évoqué l'existence de réactions croisées entre les anticorps dirigés contre des antigènes de schistosomes et ceux d'autres helminthes (MOTT *et al.*, 1987 ; ISHIDA *et al.*, 2003) ou d'autres organismes non helminthiques (ALVES-BRITO *et al.*, 1992 ; HAMILTON *et al.*, 1999 ; KANTELHARDT *et al.*, 2002), pour expliquer la faible spécificité de tests sérologiques. Mais nous pouvons exclure cette hypothèse à la lumière des résultats d'autres études (IDRIS *et al.*, 2003 ; RUPPEL *et al.*, 1990). Ces auteurs ont en effet montré que l'existence de très fortes prévalences d'autres helminthes dans une population ne conduisait pas à une séro-prévalence élevée de la schistosomiase intestinale à *S. mansoni* quand ce dernier est absent. L'effet d'un probable traitement au praziquantel chez nos sujets est

aussi à écarter car il n'y a pas une histoire connue de traitement anti-schistosome dans notre zone d'étude depuis au moins dix ans (PODA *et al.*, 2003).

Des études *in vitro* ont montré que l'administration du praziquantel a pour effet immédiat une détérioration des téguments du parasite (ANDREWS, 1986 ; HARNETT, 1988 ; LIANG *et al.*, 2002) ; et certains auteurs pensent que cela provoque une libération abondante d'antigènes parasitaires qui est à l'origine de la réaction humorale intense observée après traitement des sujets infectés (MUTAPI, 2001). Il a aussi été observé que ces anticorps pouvaient persister jusqu'à plus de deux ans après traitement (RABELLO *et al.*, 1997 ; MUTAPI *et al.*, 1998 ; WHITTY *et al.*, 2000).

De même que la spécificité, les valeurs prédictives sont assez faibles dans la présente étude. Ces valeurs représentent les probabilités de détecter avec une méthode donnée, des « sujets positifs » parmi les malades et des « sujets négatifs » parmi les non-malades. Elles permettent ainsi un choix raisonné visant à décider quelle méthode choisir en fonction des conséquences des résultats. Ainsi le choix d'une méthode diagnostic produisant beaucoup de « faux négatifs » ou de « faux positifs » sera préférée à une autre si le traitement à fournir génère des conséquences adverses sévères ou non sur le sujet (ANCELLE, 2002). Dans le cas particulier de la schistosomiase et surtout dans une perspective de santé publique, la méthode de diagnostic de choix serait celle qui génère très peu de « faux négatifs ». Un sujet « faux positif » sera traité sans que le traitement n'entraîne des conséquences néfastes sur sa santé. Par contre les « faux négatifs » s'ils sont nombreux continueront d'entretenir la chaîne de transmission. Par ailleurs les schistosomiasés se caractérisent par leur distribution en foyers dont le niveau d'endémie est très variable d'un foyer à l'autre souvent au sein d'une même aire géographique. Ceci rend délicat l'utilisation des valeurs prédictives car elles sont très dépendantes de la prévalence de la maladie (RABELLO, 1997 ; ANCELLE, 2002). Pour surmonter cette difficulté, l'utilisation des courbes ROC représente la méthode de choix car elle permet d'analyser l'effet de la variation de la prévalence sur la sensibilité et la spécificité et alors de choisir le seuil adéquat de compromis entre sensibilité et spécificité.

Les résultats des analyses sérologiques post-traitement confirment que le délai de 7 semaines choisi pour le contrôle parasitologique n'est pas approprié pour le contrôle sérologique. Pourtant des études de suivi sérologique de l'efficacité du traitement au praziquantel ont montré une baisse rapide des IgG anti-SEA et surtout anti-CEF6 à partir de 6 mois après le traitement (DOENHOFF *et al.*, 2003). Dans la perspective de l'utilisation des méthodes sérologiques pour le monitoring de traitement au praziquantel, DOENHOFF *et al.* (2004) proposent comme alternative aux IgG, l'utilisation des IgA (RABELLO *et al.*, 1997) ou des différents isotypes (GROGAN *et al.*, 1996).

2.3. Le test d'immunofluorescence indirecte

L'immunofluorescence indirecte avec des sections de vers adultes quoique reconnue comme ayant une très grande sensibilité (MOTT et DIXON, 1982) a rarement été utilisée comme méthode de diagnostic en zone d'endémie. Pourtant elle est couramment utilisée pour la confirmation de la schistosomiase d'importation chez les voyageurs (TARP *et al.*, 2000) ou pour différencier les stades aiguës ou chroniques de la schistosomiase (KANAMURA *et al.*, 1979 ; OKOT-KOTBER, 1978 ; LI *et al.*, 2004). Nos résultats obtenus à partir d'un sous échantillon de 100 sérums ont confirmé la prédominance de la fluorescence associée au parenchyme parasitaire sur la fluorescence focale. La fluorescence focale qui est associée à la phase aiguë de la schistosomiase (KANAMURA *et al.*, 1979) apparaît généralement autour de 44 jours post-infection (RUPPEL *et al.*, 1985a) en l'absence de la fluorescence parenchymateuse. Nos résultats sont en accord avec ceux de TARP *et al.* (2000) qui ont décrit la présence de la fluorescence focale (associée à l'intestin du parasite) chez des européens revenant de zones endémiques et son absence chez 13 africains dans des situations similaires à Bobo-Dioulasso.

2.4. Place du diagnostic sérologique dans une perspective de contrôle de la schistosomiase.

Parmi les méthodes de diagnostic de la schistosomiase, les méthodes immunologiques sont sans doute les plus développées au vu de leur diversité. Ces méthodes ont connues une attention particulière ces 20 dernières années surtout avec la démonstration des limites de la technique parasitologique traditionnelle (DE VLAS et GRYSEELS, 1992 ; ENGELS *et al.*, 1997 ; KONGS *et al.*, 2001 ; UTZINGER *et al.*, 2001). Ainsi d'intenses travaux ont été entrepris pour le développement de tests détectant la présence du parasite, notamment la détection d'antigènes circulants. Deux protéoglycanes, « circulating cathodic antigen » et « circulating anodic antigen » se sont révélés les plus prometteurs (DEELDER *et al.*, 1976 ; NASH et DEELDER, 1985) et constituent pratiquement les seuls ayant donné des tests utilisés à ce jour (DEELDER *et al.*, 1989a, 1989b ; GUNDERSON *et al.*, 1992 ; VAN ETTEN *et al.*, 1997). Les tests détectant les antigènes circulants ont une grande spécificité (POLMAN *et al.*, 2000) et présentent une bonne corrélation avec le décompte des oeufs de parasite (VAN LIESHOUT *et al.*, 1995a ; POLMAN *et al.*, 2001). En plus, il y a une décroissance rapide du taux sanguin de ces antigènes après cure (DEELDER *et al.*, 1994 ; DE CLERCQ *et al.*, 1997) et surtout peuvent être détectés dans les urines ce qui évite le prélèvement invasif de sang. Le grand désavantage des méthodes détectant les antigènes réside dans le fait que sa sensibilité ne diffère pas tellement du Kato-Katz (VAN LIESHOUT *et al.*, 1995b ; VAN LIESHOUT *et al.*, 2000). En plus leur dépendance aux anticorps monoclonaux limite leur utilisation. La nature glycosidique de ces antigènes ne permet pas non plus une production par recombinaison génétique.

Face à ces tests immunologiques « directs », il y a les tests sérologiques (« indirects ») détectant les anticorps produits en réponse à la présence du parasite. Divers tests sérologiques existent (HAMILTON *et al.*, 1998) mais les plus connus et les plus utilisés sont les ELISAs (ENGVALL et PERLMANN, 1971 ; VOLLER *et al.*, 1976). Tous les stades parasitaires du compartiment humain provoquent une production d'anticorps plus ou moins facilement

délectable (DOENHOFF *et al.*, 2004) en ELISA. Ceci place les méthodes sérologiques au premier rang des moyens de diagnostic de la schistosomiase. Les ELISAs permettent l'analyse simultanée d'un grand nombre d'échantillons, et sont facilement reproductibles. Elles ne nécessitent pas de grandes quantités de sérums et peuvent être effectuées à partir de spots de sang recueillis sur du papier filtre. En plus les échantillons destinés à des analyses sérologiques ne nécessitent aucun traitement préalable.

Les reproches très souvent formulées à l'encontre des méthodes de détection d'anticorps sont : leur manque de spécificité, elles ne reflètent pas une infection active et sont impropres pour le « monitoring » du traitement. Comme avancé plus haut dans la discussion de nos résultats, la faible spécificité de la sérologie est inhérente à la méthode de référence (Kato-Katz) dont la sensibilité est reconnue faible. Aussi, des études ont démontré d'une part l'existence d'une bonne corrélation entre le décompte des œufs et les titres des anticorps anti-antigènes d'œufs (SEA et CEF6) et d'autre part que les titres de ces anticorps décroissaient rapidement après cure (GROGAN *et al.*, 1996 ; DOENHOFF *et al.*, 2003). Ces tests pourraient donc servir pour les campagnes de contrôle où il est effectué des traitements répétitifs. Par ailleurs, le caractère invasif de la détection d'anticorps pourrait être évité par l'utilisation de matériels biologiques autres que le sérum. Dans cet optique les sécrétions salivaires sont des candidats potentiels (SANTOS *et al.*, 2000). Une autre méthode sérologique pouvant être facilement inclus dans un programme de contrôle est l'haemagglutination indirecte. Cette méthode qui est largement utilisée en Chine présente l'avantage de ne pas nécessiter de courant électrique et d'appareillage sophistiqué. Bien qu'ayant une sensibilité inférieure à celle de l'ELISA (MOTT et DIXON, 1982 ; SORGHO *et al.*, 2005), sa performance reste supérieure à celle de la parasitologie et pourrait être de ce fait utilisée dans les régions éloignées. Il en est de même pour les dot-ELISA. Une attention particulière devrait être faite aux antigènes dérivés d'œuf dans le but de les adapter à ces techniques simples en vue d'accroître leur performance.

Des études de coût-efficacité comparant certaines méthodes diagnostiques dans des programmes de lutte ont été réalisées (CARABIN *et al.*, 2000 ; ANSELL et GUYATT, 2002) mais nous ne disposons pas de pareils résultats

incluant les méthodes immunologiques. Pourtant ces résultats seraient d'une grande importance pour la prise de décisions et le choix des méthodes à inclure dans les programmes nationaux.



Chapitre V :

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES



CHAPITRE V : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

1. CONCLUSION

Le présent travail a permis l'évaluation de l'endémie bilharzienne dans deux hydro-aménagements de l'Ouest du Burkina Faso en utilisant à la fois des techniques parasitologiques et sérologiques. Elle a permis de mettre à jour les connaissances sur les schistosomiasés surtout la forme intestinale dans des régions où les données étaient soit inexistantes soit trop vieilles pour refléter la réalité. Il a d'une part apporté la preuve de l'existence des deux formes de schistosomiase dans le village de Banzon et d'autre part, fait le point sur l'évolution de l'endémie à la Vallée du Kou. Ainsi les résultats suggèrent que *S. haematobium* a pratiquement disparu de la Vallée du Kou alors que ce parasite y existait en sympatrie avec *S. mansoni* une décennie avant notre étude. Un suivi plus approfondi est donc nécessaire afin de confirmer ce phénomène vu son importance épidémiologique. D'autres régions du pays (telle que le Sourou) sont des foyers mixtes à *S. haematobium* et *S. mansoni* et peuvent donc constituer des plateformes pour l'étude de ces phénomènes écologiques.

Sur le plan thérapeutique, nos résultats ont montré que le praziquantel est encore efficace à plus de 80 % sur les deux formes de schistosomiase ; il reste donc le médicament de choix pour le traitement de ces helminthiases dans ces régions (HAGAN *et al.*, 2004).

En addition, la réactivité d'échantillons de sérums de sujets provenant de la Vallée du Kou contre cinq différents types d'antigènes de *S. mansoni* a été analysée et leurs performances diagnostiques évaluées en ELISA. Aussi d'autres méthodes que sont l'haémagglutination et l'immunofluorescence indirectes ont été incluses dans cette étude. Nous avons observé une meilleure performance de SEA et CEF6 (antigènes dérivés des œufs de parasite) en comparaison avec les homogénats de parasites (SWAP). Par ailleurs, le produit

de sécrétion-excrétion du parasite (WoV) a présenté un niveau de performance comparable au SEA et au CEF6.

Cette étude a aussi confirmé que le CS (sécrétions de cercaires) n'est pas un bon indicateur de l'infection patente par les schistosomes mais il possède des potentialités qui leur octroient une place dans la large gamme des outils diagnostics de la schistosomiase. Néanmoins beaucoup d'investigations sont nécessaires pour l'identification des composantes actives en vue de l'amélioration du pouvoir diagnostique des sécrétions de parasites adultes d'une part et celles des cercaires d'autre part.

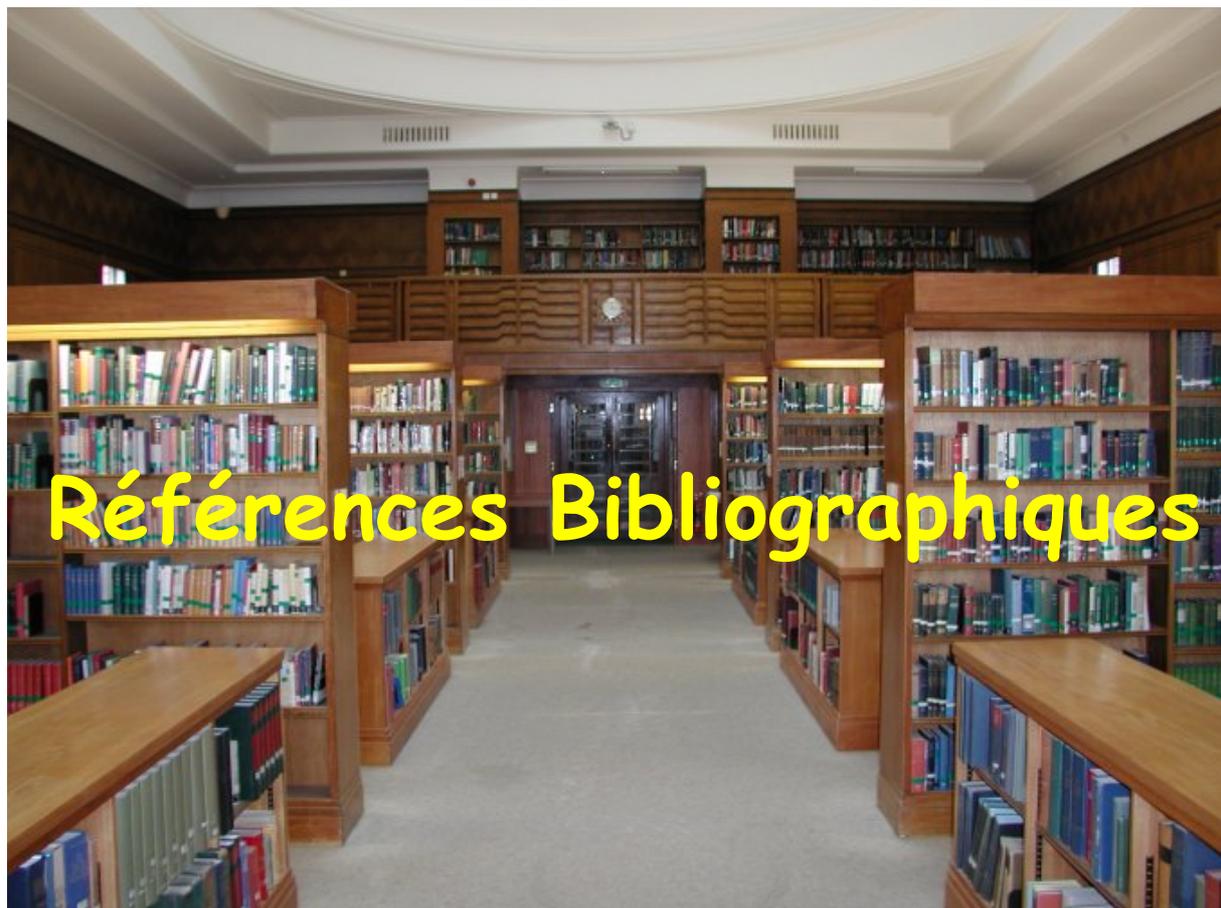
La performance diagnostique de l'haemagglutination indirecte à base d'antigènes hétérologues s'est montrée peu satisfaisante. Aussi les résultats de l'IHA à base d'homogénat de *S. mansoni* ont présenté une performance moyenne. Pourtant l'IHA a l'avantage de ne pas nécessiter du matériel sophistiqué ni de l'utilisation d'électricité. Les résultats obtenus en ELISA indiquent que le développement de test IHA à partir d'œufs de parasite augmenterait sa performance de manière substantielle. Les méthodes ELISAs peuvent être améliorées, en vue de leur utilisation dans les centres de santé de référence et dans les instituts de recherche.

Récemment il a été mis au point une méthode de détection de DNA de *S. mansoni* aussi bien dans le sérum que dans les fèces (PONTES *et al.*, 2002, 2003 ; GOBERT *et al.*, 2005). Les performances rapportées de cette méthode sont nettement supérieures à celles de la parasitologie. Elle pourrait donc être utilisée comme méthode de référence.

2. PERSPECTIVES

- Les résultats présentés constituent une première tentative de sérodiagnostic de la schistosomiase intestinale au Burkina Faso et de ce fait des recherches futures sont nécessaires afin de les rendre applicables :
- Un essai doit être entrepris en vue du développement d'un test IHA à base d'œuf, le SEA, le CEF6 et le WoV étant les plus indiqués.

- Un screening des supports agglutination (érythrocytes et bille de latex) en combinaison avec les différents antigènes doit être entrepris en vue d'identifier le meilleur support de test.
- Afin de faciliter l'utilisation des tests les plus performants dans les centres de santé périphériques, les meilleurs antigènes peuvent être adaptés en dot-ELISA qui fonctionne également sans électricité (comme l'IHA).
- Aussi il conviendrait de chercher des substituts du sang comme source de matière biologique afin de réduire les risques de contamination par d'autres maladies transmissibles par le sang. Pour cela des sécrétions telles que la salive et autres sécrétions orales sont des candidats potentiels.
- Sur le plan parasitologique, bien que le praziquantel reste très efficace, des tests de sensibilité in vitro doivent être entrepris en vue de suivre l'évolution de l'efficacité de cette drogue dans les zones endémiques.



Références Bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abdel-Wahab M.F., Strickland G.T., El-Sahly N., El-Khady N., Zakaria S. and Ahmed L.**, 1979. Changing pattern of schistosomiasis in Egypt 1935-79. *Lancet*, ii, 2, 242-244.
2. **Abdel-Wahab M.F., Yosery A., Narooz S., Esmat G., El Hak S., Nasif S. and Strickland G.T.**, 1993. Is *Schistosoma mansoni* replacing *Schistosoma haematobium* in the Fayoum? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 49, 6, 697-700.
3. **Abebe F., Birkeland K.I., Gaarder P.I., Petros B. and Gundersen S.G.**, 2003. The relationships between dehydroepiandrosterone sulphate (DHEAS), the intensity of *Schistosoma mansoni* infection and parasite-specific antibody responses. A cross-sectional study in residents of endemic communities in north-east Ethiopia. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 111, 319-328.
4. **Alves-Brito C.F., Simpson A.J.G., Bahia-Oliveira L.M.G., Rabello A.L.T., Rocha R.S., Lambertucci J.R., Gazzinelli G., Katz N. and Correa-Oliveira R.**, 1992. Analysis of anti-keyhole limpet haemocyanin antibody in Brazilians supports its use for the diagnosis of acute schistosomiasis mansoni. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 86, 53-6.
5. **Amanor J.D., Bosompem K.M., Arishima T., Assoku R.K.G. and Kojima S.**, 1996. Characterization of monoclonal antibodies reactive with *Schistosoma haematobium*-soluble egg and infected human urinary antigens. *Hybridoma*, 15, 219-224.
6. **Andrews P.**, 1986. Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity. *Pharmacological Theory*, 29, 129-156.
7. **Ansell J. and Guyatt H.L.**, 2002. Comparative cost-effectiveness of diagnostic tests for urinary schistosomiasis and the implications for school health programmes. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 96, 2, 145-153.
8. **Aryeetey M.E., Wagatsuma Y., Yeboah G., Asante M., Mensah G., Nkrumah F.K. and Kojima S.**, 2000. Urinary schistosomiasis in Ghana : 1. Prevalence and morbidity assessment in three (defined) rural areas drained by the Densu river. *Parasitology International*, 49, 155-163.

9. **Attwood S.W., Panasoponkul C., Upatham E.S., Meng X.H. and Southgate V.R.**, 2002. *Schistosoma ovuncatum* n. sp. (Digenea: Schistosomatidae) from northwest Thailand and the historical biogeography of Southeast Asian *Schistosoma* Weinland, 1858. *Systematic Parasitology*, 51, 1-19.
10. **Bahgat M., Francklow K., Doenhoff M.J., Li Y.L., Ramzy R.M.R., Kirsten C. and Ruppel A.**, 2001. Infection induces antibodies against the cercarial secretions, but not against the cercarial elastases of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum* and *Trichobilharzia ocellata*. *Parasite Immunology*, 23, 557-565.
11. **Bahgat M., Sorgho H., Ouédraogo J.B., Poda J.N., Sawadogo L. and Ruppel A.**, 2005. Enzyme-linked immunosorbent assay with worm vomit and cercarial secretions of *Schistosoma mansoni* to detect infections in an endemic focus of Burkina Faso. *Journal of Helminthology*, 79, 1-5.
12. **Bara A., Poda J.N., Savadogo L.L., Bremond P. et Tiendrebeogo H., 1998.** Mise en évidence de *Schistosoma bovis* et de *S. curassoni* au Burkina Faso. *Burkina Médical*, 2, 5-7.
13. **Berggren W.L. and Weller T.H.**, 1967. Immuno-electrophoretic demonstration of specific circulating antigen in animals infected with *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 16, 606-612.
14. **Bergquist N.R.**, 2002. Schistosomiasis: from risk assessment to control. *Trends in Parasitology*, 18, 7, 309-314.
15. **Bethony J., Williams J.T., Blangero J., Kloos H., Gazzinelli A., Soares-Filho B., Coelho L., Alves-Fraga L., Williams-Blangero S., Loverde P.T. and Correa-Oliveira R.**, 2002. Additive host genetic factors influence fecal egg excretion rates during *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 67, 4, 336-343.
16. **Booth M., Voumatsou P., N'Goran E.K., Tanner M. and Utzinger J.**, 2003. The influence of sampling effort and the performance of the Kato-Katz technique in diagnosing *Schistosoma mansoni* and hookworm co-infections in rural Côte d'Ivoire. *Parasitology*, 127, 525-531.
17. **Bosompem K.M., Ayi I., Nkurumah F.K. and Kojima S.**, 1996. Limited field evaluation of a rapid monoclonal based antibody-based dipstick assay for urinary schistosomiasis. *Hybridoma*, 15, 443-447.
18. **Bradley D.J.**, 1965. A simple and rapid method of counting schistosome eggs in urine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 58, 291.

19. **Bradley D.J.**, 1972. Regulation of parasite populations. A general theory of the epidemiology and control of parasite infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 66, 697-708.
20. **Caffrey C.R. and Ruppel A.**, 1997. Cathepsin B-like activity predominates over cathepsin L-like activity in adult *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum*. *Parasitology Research*, 83, 632-635.
21. **Caffrey C.R., McKerrow J.H., Salter J.P. and Sajid M.**, 2004. Blood 'n' guts: an update on schistosome digestive peptidases. *Trends in Parasitology*, 20, 241-248.
22. **Campagne G., Poda J.N., Garba A., Bremond P., Labbo R., Compaoré I., Parent G. et Chippaux J.P.**, 1998. Le risque bilharzien dans la région du barrage de Bagré, Burkina Faso. *Médecine Tropicale*, 58, 415-416.
23. **Carabin H., Guyatt H.L. and Engels D.**, 2000. A comparative analysis of the cost-effectiveness of treatment based on parasitological and symptomatic screening for *Schistosoma mansoni* in Burundi. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 192-202.
24. **Chitsulo L., Engels D., Montresor A. and Savioli L.**, 2000. The global status of schistosomiasis and its control. *Acta Tropica*, 77, 41-51.
25. **Cioli D. and Pica-Mattoccia L.**, 2003. Praziquantel. *Parasitology Research*, 90, S3-S9.
26. **Cosgrove C.L. and Southgate V.R.**, 2002. Mating interactions between *Schistosoma mansoni* and *S. margrebowiei*. *Parasitology*, 125, 233-243.
27. **Cosgrove C.L. and Southgate V.R.**, 2003. Competitive mating interactions between *Schistosoma haematobium* and *S. intercalatum* (Lower Guinea strain). *Parasitology Research*, 89, 238-241.
28. **Cunin P., Tchuem Tchuente L.A. Poste B., Djibrilla K. and Martin P.M.V.**, 2003. Interactions between *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* in humans in north Cameroon. *Tropical Medicine and International Health*, 8, 12, 1110-1117.
29. **Cutts L. and Wilson R.A.**, 1997. The protein antigens secreted *in vitro* by adult male *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 114, 245-255.
30. **Da Silva L.C., Chieffi P.P. and Carrilho F.J.**, 2005. Schistosomiasis mansoni – Clinical features. *Gastroenterologia y Hepatologia*, 28, 1, 30-39.
31. **Danso-Appiah A. and De Vlas S.J.**, 2002. Interpreting low praziquantel cure rates of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal. *Trends in Parasitology*, 18, 3, 125-129.

32. **De Bont J. and Vercruysse J.**, 1997. The epidemiology and control of cattle schistosomiasis. *Parasitology Today*, 13, 255-262.
33. **De Bont J. and Vercruysse J.**, 1998. Schistosomiasis in cattle. *Advances in Parasitology*, 41, 285-204.
34. **De Clercq D., Sacko M., Vercruysse J., van den Bussche V., Landouré A., Diarra A., Gryseels B. and Deelder A.**, 1997. Assessment of cure by detection of circulating antigens in serum and urine, following schistosomiasis mass treatment in two villages of the Office du Niger, Mali. *Acta Tropica*, 68, 339-346.
35. **De Clercq D., Vercruysse J., Picquet M., Shaw D.J., Diop M., Ly A. and Gryseels B.**, 1999. The epidemiology of a recent focus of mixed *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* infections around the 'Lac de Guiers' in the Senegal River Basin, Senegal. *Tropical Medicine and International Health*, 4, 8, 544-550.
36. **De Clercq D., Vercruysse J., Sene M., Seck I., Sall C.S.M., Ly A. and Southgate V.R.**, 2000. The effects of irrigated agriculture on the transmission of urinary schistosomiasis in the Middle and Upper Valleys of the Senegal River basin. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 94, 6, 581-590.
37. **De Vlas S.J. and Gryssels B.**, 1992. Underestimation of *Schistosoma mansoni* prevalences. *Parasitology Today*, 8, 274-279.
38. **Deelder A.M., Klappe H.T.M., Van Den Aardweg G.J.M.J. and Van Meerbeke E.H.E.M.**, 1976. *Schistosoma mansoni* : demonstration of two circulating antigens in hamsters. *Experimental Parasitology*, 40, 189-197.
39. **Deelder A.M., De Jonge N., Boerman O.C., Fillié Y.E., Hilberath J., Rotmans J.P., Gerritse M.J. and Schut D.W.O.**, 1989a. Sensitive determination of circulating anodic antigen in *Schistosoma mansoni* infected individuals by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 40, 268-272.
40. **Deelder A.M., De Jonge N., Fillié Y.E., Kornelis D., Hlaha D., Qian Z.L., Decaluwe P. and Polderman A.M.**, 1989b. Quantitative determination of circulating antigens in human schistosomiasis mansoni using an indirect haemagglutination assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 40, 50-54.

41. **Deelder A.M., Qian Z.L., Kreamsner P.G., Acosta L., Rabello A.L.T., Enyong P., Simarro P.P., Van Etten E.C.M., Krijger F.W., Rotmans J.P., Fillié Y.E., De Jonge N., Agnew A.M. and Van Lieshout L.,** 1994. Quantitative diagnosis of *Schistosoma* infections by measurement of circulating antigens in serum and urine. *Tropical and Geographical Medicine*, 46, 235-238.
42. **Dessein A.J., Marquet S., Henri S., El Wali N.E.M.A., Hilaire D., Rodrigues V., Prata A., Ali Q.M., Gharib B., De Reggi M., Magzoub M.M.A., Saeed O.K., Abdelhameed A.A. and Abel L.,** 1999. Infection and disease in human schistosomiasis mansoni are under distinct major gene control. *Microbes and Infection*, 1, 561-567.
43. **Dianou D., Poda J.N., Sorgho H., Wango S.P. and Sondo K.B.,** 2003. Hydraulic plannings and Schistosomiasis: Case of Sourou in Burkina Faso. *Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 1, 2, 105-111.
44. **Doenhoff M.J., Pearson M., Dunne D.W., Bickle Q., Lucas S., Bain J. and Hassounah O.,** 1981. Immunological control of hepatotoxicity and parasite egg excretion in *Schistosoma mansoni* infection : Stage specificity of the reactivity of immune serum in T-cell deprived mice. ?. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 75, 41-53.
45. **Doenhoff M.J., Hassounah O., Bain J. and Lucas S.,** 1986. The schistosome egg granuloma : immunopathology in the cause of host protection or parasite survival?. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80, 503-514.
46. **Doenhoff M.J., Butterworth A.E., Hayes R.J., Sturrock R.F., Ouma J.H., Koech D., Prentice M. and Bain J.,** 1993. Seroepidemiology and serodiagnosis in Kenya using crude and purified egg antigens of *Schistosoma mansoni* in ELISA. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87, 42-48.
47. **Doenhoff, M.J., Wheeler J.G., Tricker K, Hamilton J.V., Sturrock R.F., Butterworth A.E., Ouma J.H., Mbugua G.G., Kariuki C. and Koech D.,** 2003. The detection of antibody against *Schistosoma mansoni* soluble egg antigen (SEA) and CEF6 in ELISA, before and after chemotherapy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 97, 697-709.
48. **Doenhoff M.J., Chiodini P.L. and Hamilton J.V.,** 2004. Specific and sensitive diagnosis of schistosome infection: can it be done with antibodies? *Trends in Parasitology*, 20, 35-39.

49. **Doumenge J., Mott K.E., Cheung C., Villenave D., Chapuis O., Perrin M.F. and Reaud-Thomas G.**, 1987. *Centre d'Etude de Geographie Tropicale : WHO Atlas of the Global Distribution of Schistosomiasis*. Presses Universitaires de Bordeaux, Bordeaux, p.400.
50. **Dunne D.W., Bain J., Lillywhite J. and Doenhoff M.J.**, 1984. The stage-, strain-, and species-specificity of a *Schistosoma mansoni* cationic egg antigen fraction 6 (CEF6) with serodiagnostic potential. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 460-470.
51. **Eberl M., Al-Sherbiny M., Hagan P., Ljubojevic S., Thomas A.W. and Wilson R.A.** 2002. A novel and sensitive method to monitor helminth infections by faecal sampling. *Acta Tropica*, 83, 183-187.
52. **El-Khoby T., Galal N., Fenwick A., Barakat R., El-Hawey A., Nooman Z., Habib M., Abdel-Wahab F., Gabr N.S., Hammam H.M., Hussein M.H., Mikhail N.N.H., Cline B.L. and Stricklan G.T.**, 2000. The epidemiology of schistosomiasis in Egypt: summary findings in nine governorates. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 62, 2S, 88-99.
53. **Engels D., Sinzinkayo E., De Vlas S.J. and Gryseels B.**, 1997. Intraspecimen fecal egg count variation in *Schistosoma mansoni* infection. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 57, 571-577.
54. **Engels D., Chitsulo L., Montresor A. and Savioli L.**, 2002. The global epidemiological situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta Tropica*, 82, 139-146.
55. **Engvall E. and Perlmann P.**, 1971. ELISA : Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8, 871-874.
56. **Engvall E. and Perlmann P.**, 1972. ELISA III : Quantitation of specific antibodies by enzyme-labelled anti- immunoglobulin in antigen coated tubes. *Journal of Immunology*, 109, 129.
57. **Ernould J.C.**, 1996. . *Epidémiologie des schistosomoses humaines dans le delta du fleuve Sénégal. Phénomène récent de compétition entre Schistosoma mansoni BILHAZ, 1852 et S. haematobium SAMBO, 1907*. Thèse Doc. Univ Paris XII. Val de Marne, 447p.
58. **Ernould J.C., Ba K. and Sellin B.**, 1999. Increase of intestinal schistosomiasis after praziquantel treatment in a *Schistosoma mansoni* mixed focus. *Acta Tropica*, 73, 143-152.

59. **Fallon P.G., Sturrock R.F., Capron A., Niang M. and Doenhoff M.J.**, 1995. Diminished susceptibility to praziquantel in a Senegalese isolate of *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53, 61-62.
60. **Feldmeier H., Zwingenberger K., Steiner A. and Dietrich M.**, 1981. Diagnostic value of rectal biopsy and concentration methods in schistosomiasis intercalatum: quantitative comparison of three techniques. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 32, 243-246.
61. **Fenwick A., Savioli L., Engels D., Bergquist N.R. and Todd M.H.**, 2003. Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends in Parasitology*, 19, 509-515.
62. **Fulford A.J.C., Webster M., Ouma J.H., Kumani G. and Dunne D.W.**, 1998. Puberty and age-related changes in susceptibility to schistosome infection. *Parasitology Today*, 14, 1, 23-26.
63. **Garba A., Campagne G., Poda J.N., Parent G., Kambiré R. et Chippaux J.P.**, 1999. Les schistosomoses dans la région de Ziga (Burkina Faso) avant la construction du barrage. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 92, 3, 195-197.
64. **Gaud J.**, 1955. Les bilharzioses en Afrique occidentale et en Afrique centrale. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 13, 209-258.
65. **Gobert G.N., Chai M., Duke M. and McManus D.P.**, 2005. Copro-PCR based detection of *Schistosoma* eggs using mitochondrial DNA markers. *Molecular and Cellular Probes*, 19, 250-254.
66. **Gönnert R. and Andrews P.**, 1977. Praziquantel, a new broad-spectrum antischistosomal agent. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 52, 129-150.
67. **Grabe K. and Haas W.**, 2004. Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* schistosomula respond to chemical gradients. *International Journal for Parasitology*, 34, 927-934.
68. **Grevelding C.G., Sommer G. and Kunz W.**, 1997. Female-specific gene expression in *Schistosoma mansoni* is regulated by pairing. *Parasitology*, 115, 635-640.
69. **Grogan J.L., Kreamsner P.G., Van Dam G.J., Metzger W., Mordmüller B., Deelder A.M. and Yazdanbaksh M.**, 1996. Antischistosome IgG4 and IgE responses are affected differentially by chemotherapy in children versus adults. *Journal of Infectious Diseases*, 173, 1242-1247.

70. **Gryseels B. and Nkulikyinka L.**, 1988. The distribution of *Schistosoma mansoni* in the Rusizi plain. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 82, 6, 581-590.
71. **Gryseels B., Mbaye A., De Vlas S.J., Stelma F.F., Guissé F., Van Lieshout L., Faye D., Diop M., Ly A., Tchuem-Tchuente L.A., Engels D. and Polman K.**, 2001. Are poor responses to praziquantel for the treatment of *Schistosoma mansoni* infections in Senegal due to resistance? An overview of the evidence. *Tropical Medicine and International Health*, 11, 864-873.
72. **Gui M., Idris M.A., Shi Y.E., Mühling A. and Ruppel A.**, 1991. Reactivity of *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* antigen preparations in indirect haemagglutination (IHA) with sera of patients with homologous and heterologous schistosomiasis. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 85, 6, 599-604.
73. **Gui M., Kusel J.R., Shi Y.E. and Ruppel A.**, 1995. *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* : comparison of larval migration patterns in mice. *Journal of Helminthology*, 69, 19-25.
74. **Gunderson S.G., Haagense I., Jonassen T.O., Figenschau K.J., De Jonge N. and Deelder A.M.**, 1992. Magnetic bead antigen capture enzyme-linked immunoassay in microtitre trays for rapid detection of schistosomal circulating anodic antigen. *Journal of Immunological Methods*, 148, 1-8.
75. **Gyorkos T.W., Ramsan M., Foum A. and Khamis I.S.**, 2001. Efficacy of new low-cost filtration device for recovering *Schistosoma haematobium* eggs from urine. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 7, 2681-2682.
76. **Haas W., Granzer M. and Garcia E.G.**, 1987. Host identification by *Schistosoma japonicum* cercariae. *Journal of Parasitology*, 73, 568-577.
77. **Haas W., Haberl B., Schmalfluss G. and Khayyal M.T.**, 1994. *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 80, 345-353.
78. **Haas W., Grabe C., Geis C., Pach T., Stoll K., Fuchs H., Haberl B. and Loy C.**, 2002. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. *Parasitology*, 124, 153-167.
79. **Haberl B., Kalbe M., Fuchs H., Strobel M., Schmalfluss G. and Haas W.**, 1995. *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* : miracidial host-finding behaviour is stimulated by macromolecules. *International Journal for Parasitology*, 25, 551-560.

80. **Hagan P., Appleton C.C., Coles G.C., Kusel J.R. and Tchuem-Tchuente L.A.,** 2004. Schistosomiasis control : keep taking the tablets. *Trends in Parasitology*, 20, 92-97.
81. **Hamilton J.V., Klinkert M. and Doenhoff M.J.,** 1998. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, with notes on parasitological and antigen detection methods. *Parasitology*, 177, S41-S57.
82. **Hamilton J.V., Chiodini P.L., Fallon P.G. and Doenhoff M.J.,** 1999. Periodate-sensitive immunological cross-reactivity between keyhole limpet haemocyanin (KLH) and serodiagnostic *Schistosoma mansoni* egg antigens. *Parasitology*, 118, 83-90.
83. **Hancock K., Mohamed Y.B., Xue H.C., Noh J., Dotson E.M. and Tsang V.C.W.,** 1997. A recombinant protein from *Schistosoma mansoni* useful for the detection of *S. mansoni* and *Schistosoma haematobium* antibodies. *Journal of Parasitology*, 83, 612-618.
84. **Harnett W.,** 1988. The antihelminthic action of praziquantel. *Parasitology Today*, 4, 144-146.
85. **Harris A.R.C., Russell R.J. and Charters A.D.,** 1984. A review of schistosomiasis in immigrants in Western Australia demonstrating the unusual longevity of *Schistosoma mansoni*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 385-388.
86. **Harrop R., Jennings N., Mountford A.P., Coulson P.S. and Wilson R.A.,** 2000. Characterization, cloning and immunogenicity of antigens released by transforming cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 121, 385-394.
87. **He Y.X., Chen L. and Ramaswamy K.,** 2002. *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum* : early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Experimental Parasitology*, 102, 99-108.
88. **Hernandez D.C., Lim K.C., McKerrow J.H. and Davies S.J.,** 2004. *Schistosoma mansoni* : sex-specific modulation of parasite growth by host immune signals. *Experimental Parasitology*, 106, 59-61.
89. **Homedia M., Abdel-Gadir A.F., Cheever A.W., Bennett J.L., Arbab B.M.O., Ibrahim S.Z., Abdel-Salam I.M., Dafalla A.A. and Nash T.E.,** 1988. Diagnosis of pathologically confirmed Symmers' periportal fibrosis by ultrasonography: a prospective blinded study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 38, 86-91.

90. **Hussain S., Hawass N.D. and Zaidi A.J.**, 1984. Ultrasonographic diagnosis of schistosomal periportal fibrosis. *Journal of Ultrasound and Medicine*, 3, 449-452.
91. **Idris M.A., Shaban M., Richter J., Moné H., Mouahid G. and Ruppel A.**, 2003. Emergence of infections with *Schistosoma mansoni* in the Dhofar Governorate, Oman. *Acta Tropica*, 88, 137-144.
92. **Ishida M.M.I., Rubinsky-Elefant G., Ferreira A.W., Hoshino-Shimizu S. and Vaz A.J.**, 2003. Helminth antigens (*Taenia solium*, *Taenia crassiceps*, *Toxocara canis*, *Schistosoma mansoni* and *Echinococcus granulosus*) and cross-reactivities in human infections and immunized animals. *Acta Tropica*, 89, 73-84.
93. **Ishii A., Tsuji M. and Tada I.**, 2003. History of Katayama disease : schistosomiasis japonica in Katayama district, Hiroshima, Japan. *Parasitology International*, 52, 313-319.
94. **Ismail M., Metwally A., Farghaly A., Bruce J., Tao L.F. and Bennett J.L.**, 1996. Characterization of isolates of *Schistosoma mansoni* from Egyptian villagers that tolerate high doses of praziquantel. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 55, 214-218.
95. **Ismail M., Botros S., Metwally A., William S., Farghally A., Tao L.F., Day T.A. and Bennett J.L.**, 1999. Resistance to praziquantel: direct evidence from *Schistosoma mansoni* isolated from Egyptian villagers. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 60, 932-935.
96. **Jordan P.**, 2000. From Katayama to the Dakhla Oasis: the beginning of epidemiology and control of bilharzias. *Acta Tropica*, 77, 9-40.
97. **Kahama A.I., Nibbeling H.A.M., Van Zeyl R.J.M., Vennervald B.J., Ouma J.H. and Deelder A.M.**, 1998. Detection and quantification of soluble egg antigen in urine of *Schistosoma haematobium* infected children from Kenya. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 769-774.
98. **Kalbe M., Haberl B., Hertel J. and Haas W.**, 2004. Heredity of specific host-finding behaviour in *Schistosoma mansoni* miracidia. *Parasitology*, 128, 635-643.
99. **Kanamura H.Y., Hoshino-Shimizu S., Camargo M.E. and Da Silva L.C.**, 1979. Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic forms of schistosomiasis mansoni. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28, 242-248.

100. **Kantelhardt S.R., Wuhrer M., Dennis R.D., Doenhoff M.J., Bickle Q. and Geyer R.**, 2002. Fuc(a1—3) GalNAc- : the major antigenic motif of *Schistosoma mansoni* glycolipids implicated in infection sera and keyhole-limpet haemocyanin cross-reactivity. *Biochemistry Journal*, 366, 217-223.
101. **Karanja D.M.S., Colley D.G., Nahlen B.L., Ouma J.H. and Secor E.W.**, 1997. Studies on schistosomiasis in Western Kenya: I. Evidence for immune-facilitated excretion of schistosome eggs from patients with *Schistosoma mansoni* and human immunodeficiency virus coinfections. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56, 5, 515-521.
102. **Kasilima Y.S., Wango E.O., Kigundu C.S., Mutayoba B.M. and Nyindo M.**, 2004. Plasma bioactive LH and testosterone profiles in male New Zealand rabbits experimentally infected with *Schistosoma mansoni*. *Acta Tropica*, 92, 165-172.
103. **Kato K. and Miura N.**, 1954. On the comparison of some stool examination methods. *Japanese Journal of Parasitology*, 3, 35-37.
104. **Katz N., Chave A. and Pellegrino J.**, 1972. A simple device for quantitative stool thick smears technique in schistosomiasis mansoni. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 14, 397-400.
105. **Kelsoe G.H. and Weller T.H.**, 1978. Immunodiagnosis of infection with *Schistosoma mansoni*: Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibody to circulating antigen. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 75, 5715-5717.
106. **Kenworthy J.D., Ye P., Wu G.C., Yu H., Shi Y.J., Li H. and Coles G.C.**, 2003. Field evaluation of a test for praziquantel resistance in *Schistosoma* sp. *Veterinary Parasitology*, 113, 83-87.
107. **King C.H. Dickman K. and Tisch D.J.**, 2005. Reassessment of the cost of chronic helminthic infection : a meta-analysis of disability-related outcomes in endemic schistosomiasis. *Lancet*, 365, 1561-1569.
108. **Klinkert M.Q., Bommert K., Moser D., Felleisen R., Link G., Doumbo O. and Beck E.**, 1991. Immunological analysis of cloned *Schistosoma mansoni* antigens Sm31 and Sm32 with sera of schistosomiasis patients. *Tropical and Medical Parasitology* 42, 319-324.
109. **Kongs A., Marks G., Verlé P. and Van der Stuyft P.**, 2001. The unreliability of the Kato-Katz technique limits its usefulness for evaluating *S. mansoni* infections. *Tropical Medicine and International Health*, 6, 163-169.

110. **Lengeler C., Utzinger J. and Tanner M.**, 2002. Questionnaires for rapid screening of schistosomiasis in sub-Saharan Africa. *Bulletin of the World Health Organization*, 80, 3, 235-242.
111. **Li Y., Rabello A.L., Simpson A.J. and Katz N.**, 1994. The serological differentiation of acute and chronic *Schistosoma japonicum* infection by ELISA using keyhole limpet haemocyanin as antigen. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 88, 249-251.
112. **Li Y.L., Herter U. and Ruppel A.**, 2004. Acute, chronic and late stage infections with *Schistosoma japonicum*: reactivity of patient sera in indirect immunofluorescent tests. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 98, 49-57.
113. **Liang Y.S., Coles G.C. and Doenhoff M.J.**, 2000. Detection of praziquantel resistance in schistosomes. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 1, 72.
114. **Liang Y.S., Coles G.C., Doenhoff M.J. and Southgate V.R.**, 2001. In vitro responses of praziquantel-resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* to praziquantel. *International Journal for Parasitology*, 31, 1227-1235.
115. **Liang Y.S., Coles G.C., Dai J.R., Zhu Y.C. and Doenhoff M.J.**, 2002. Adult worm tegumental damage and egg-granulomas in praziquantel-resistant and -susceptible *Schistosoma mansoni* treated in vivo. *Journal of Helminthology*, 76, 327-333.
116. **Linder E.**, 1990. Cercarial kissing marks- No superficial make-up. *Parasitology Today*, 6, 12, 393-395.
117. **Locher E.R., 1983.** A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. *Parasitology*, 87, 343-369.
118. **Lockyer A.E., Olson P.D., Østergaard P., Rollinson D., Johnston D.A., Attwood S.W., Southgate V.R., Horak P., Snyder S.D., Le T.H., Agatsuma T., McManus D.P., Carmichael A.C., Naem S. and Littlewood D.T.J.**, 2003. The phylogeny of the Schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of *Schistosoma* Weinland, 1858. *Parasitology*, 126, 203-224.
119. **LoVerde P.T. and Chen L.**, 1991. Schistosome female reproductive development. *Parasitology Today*, 7, 11, 303-308.
120. **Marshall I., Morrison J.A. and Nyrenda W.**, 1989. Comparison of potassium hydroxide and modified Kato for semi-quantitative estimation of *Schistosoma mansoni* eggs in faeces. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 83, 818-823.

121. **McKerrow J.H., Keene W.B., Jeong K. and Werb Z.**, 1983. Degradation of connective tissue matrix by larvae of *Schistosoma mansoni*. I. Degradation by cercariae as a model for initial parasite invasion of host. *Laboratory Investigation*, 49, 195-200.
122. **McKerrow J.H.**, 1997. Cytokine induction and exploitation in schistosome infections. *Parasitology*, 115, S107-S112.
123. **McKerrow J.H. and Salter J.**, 2000. Invasion of skin by schistosoma cercariae. *Trends in Parasitology*, 18, 5, 193-195.
124. **McLaren M., Draper C.C., Roberts J.M, Minter-Goedbloed E., Ligthart G.S., Teesdale C.H., Amin M.A, Omer A.H., Bartlett A. and Voller A.**, 1978. Studies on the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test for *Schistosoma mansoni* infections. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 72, 243-253.
125. **Morand S., Southgate V.R. and Jourdane J.**, 2002. A model to explain the replacement of *Schistosoma intercalatum* by *Schistosoma haematobium* and the hybrid *S. intercalatum* X *S. haematobium* in areas of sympatry. *Parasitology*, 124, 401-408.
126. **Mott K.E. and Dixon H.**, 1982. Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of schistosomiasis. *Bulletin of the World Health Organization*, 60, 5, 729-753.
127. **Mott K.E., Dixon H., Osei-Tutu E., England E.C., Ekue K. and Tekle A.**, 1985. Indirect screening for *Schistosoma haematobium* infection: a comparative study in Ghana and Zambia. *Bulletin of the World Health Organization*, 63, 135-142.
128. **Mott K.E., Dixon H., Carter C.E., Garcia E., Ishii A. Matsuda H., Mitchell G. Owhashi M., Tanaka H. and Tsang V.C.**, 1987. Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of *Schistosoma japonicum* infection. *Bulletin of the World Health Organization*, 65, 2, 233-244.
129. **Mutapi F., Ndhlovu P.D., Hagan P. and Woolhouse M.E.J.**, 1998. Changes in specific anti-egg antibody levels following treatment with praziquantel for *Schistosoma haematobium* infection in children. *Parasite Immunology*, 20, 595-600.
130. **Mutapi F.**, 2001. Heterogeneities in anti-schistosome humoral responses following chemotherapy. *Trends in Parasitology*, 17: 518-524.
131. **Nash T.E., Prescott B. and Neva F.A.** 1974. The characteristics of a circulating antigen in schistosomiasis. *Journal of Immunology*, 112, 1500-1507.

132. **Nash T.E. and Deelder A.M.**, 1985. Comparison of four schistosome excretory-secretory antigens: Phenol-sulfuric test active peak, cathodic circulating antigen, gut-associated proteoglycan, and circulating anodic antigen. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 34, 236-241.
133. **N'Goran E.K., Diabaté S., Utzinger J. and Sellin B.**, 1997a. Changes in human schistosomiasis level after the construction of two large hydroelectric dams in central Côte d'Ivoire. *Bulletin of the World Health Organization*, 6, 541-545.
134. **N'Goran E., Bremond P., Sellin E., Sellin B. and Theron A.**, 1997b. Intraspecific diversity of *Schistosoma haematobium* in West Africa: chronobiology of cercarial emergence. *Acta Tropica*, 66, 35-44.
135. **N'Goran E.K., Gnaka N., Tanner M. and Utzinger J.**, 2003. Efficacy and side-effects of two praziquantel treatments against *Schistosoma haematobium* infection, among schoolchildren from Côte d'Ivoire. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 97, 1, 37-51.
136. **Norden A.P. and Strand M.**, 1984. *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum*: identification of genus- and species-specific antigenic egg glycoproteins. *Experimental Parasitology*, 58, 333-344.
137. **Ofoezie I.E.**, 2000. Patterns of reinfection following praziquantel treatment of urinary schistosomiasis at a period of low transmission. *Acta Tropica*, 75, 123-126.
138. **Okabe K. and Tanaka T.**, 1961. Urine precipitation reaction for schistosomiasis japonica. *Kurume Medical Journal*, 8, 24-29.
139. **Okot-Kotber B.M.**, 1978. The development of stage-characteristic immunofluorescence patterns in experimental schistosomiasis in mice. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 72, 3, 256-262.
140. **Paperna I.**, 1970. Study of a outbreak of schistosomiasis in the newly formed Volta lake in Ghana. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 21, 111-125.
141. **Peters P.A., Mahmoud A.A.F., Warren K.S., Ouma J.H. and Arap Siongok T.K.**, 1976. Field studies of a rapid, accurate means of quantifying *Schistosoma haematobium* eggs in urine samples. *Bulletin of the World Health Organization*, 54, 159-162.
142. **Pica-Mattoccia L., Moroni R., Tchuem Tcheunté L.A., Southgate V.R. and Cioli D.**, 2000. Changes of mate occur in *Schistosoma mansoni*. *Parasitology*, 120, 495-500.

143. **Pino-Heiss S., Petitt M., Beckstead J.H. and McKerrow J.H.**, 1986. Preparation of monoclonal antibodies and evidence for a host immune response to the preacetabular gland proteinase of *Schistosoma mansoni* cercariae. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35, 536-543.
144. **Platt T.R. and Brooks D.R.**, 1997. Evolution of the schistosomes (Digenea : Schistosomatoidea) : The origin of dioceny and colonization of the venous system. *Journal of Parasitology*, 83, 1035-1045.
145. **Poda J.N. et Sawadogo L.**, 1994. Hôtes intermédiaires et prévalences de la bilharziose au Burkina Faso. *Science et Technique*, XX, 54-67.
146. **Poda J.N., Sellin B., Sawadogo L. et Sanogo S.**, 1994. Distribution spatiale des mollusques hôtes intermédiaires potentiels des schistosomes et de leurs biotopes au Burkina Faso. *OCCGE Info.*, 101, 12-19.
147. **Poda J.N., Sorgho H., Dianou D., Kambou T., Sawadogo B. et Sondo B.**, 2001a. Profil parasitologique de la schistosomiase urinaire du complexe hydroagricole du Sourou au Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 94, 1, 21-24.
148. **Poda J.N., Dianou D., Kambou T., Sawadogo B. et Sondo B.**, 2001b. Etude comparative de trois foyers bilharziens à *Schistosoma haematobium* au Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 1, 21-24.
149. **Poda J.N., Parent G. et Sondo B.**, 2003. Influence des hydro-aménagements sur la distribution des bilharzioses et de leurs hôtes intermédiaires au Burkina Faso. *Cahiers Santé*, 13, 1, 49-53.
150. **Poda J.N., Wango S.P., Sorgho H. et Dianou D.**, 2004a. Evolution récente des schistosomoses dans le complexe hydroagricole du Sourou au Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 97, 1, 15-18.
151. **Poda J.N., Traoré A. et Sondo B.**, 2004b. L'endémie bilharzienne au Burkina Faso. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 97, 1, 47-52.
152. **Polman K., Diakhate M.M., Engels D., Nahimana S., van Dam G.J., Falcao-Ferreira S.T.M., Deelder A.M. and Gryseels B.**, 2000. Specificity of circulating antigen detection for schistosomiasis mansoni in Senegal and Burundi. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 8, 534-537.
153. **Polman K., Stelma F.F., de Vlas S.J., Sow S., Fathers L., le Cessie S., Talla I., Deelder A.M. and Gryseels B.**, 2001. Dynamics of egg counts and circulating antigen levels in a recent *Schistosoma mansoni* focus in northern Senegal. *Tropical Medicine and International Health*, 6, 538-544.

154. **Pontes L.A., Dias-Neto E. and Rabelo A.**, 2002. Detection by polymerase chain reaction of *Schistosoma mansoni* DNA in human serum and feces. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 66, 157-162.
155. **Pontes L.A., Oliveira M.C., Katz N., Dias-Neto E. and Rabelo A.**, 2003. Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz Technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 652-656.
156. **Price H.P., Doenhoff M.J. and Sayer J.R.**, 1997. Cloning, heterologous expression and antigenicity of a schistosome cercarial protease. *Parasitology*, 114, 447-453.
157. **Rabelo A.**, 1997. Diagnosing schistosomiasis. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92, 5, 669-676.
158. **Rabelo A.L.T., Garcia M.M.A., Da Silva R.A.P. Rocha R.S. and Katz N.**, 1997. Humoral immune responses in patients with acute *Schistosoma mansoni* infection who were followed up for two years after treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 24, 304-308.
159. **Ramzy R.M.R., Faris R., Bahgat M., Helmy H., Franklin C. and McKerrow J.H.**, 1997. Evaluation of a stage-specific proteolytic enzyme of *Schistosoma mansoni* as a marker of exposure. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56, 668-673.
160. **Raso G., N'Goran E.K., Toty A., Luginbühl A., Adjoua C.A., Tian-Bi N.T., Bogoch I.I., Vounatsou P., Tanner M. and Utzinger J.**, 2004. Efficacy and side effects of praziquantel against *Schistosoma mansoni* in a community of western Côte d'Ivoire. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 98, 18-27.
161. **Ritchie I.S.**, 1948. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bulletin of the United States Army Medical Department*, 8, 326.
162. **Ross A.G.P., Bartley B.P., Sleight A.C., Olds G.R., Li Y., Williams G.M. and McManus D.P.**, 2002. Schistosomiasis. *New England Journal of Medicine*, 346, 16, 1212-1220.
163. **Ruiz-Tiben E., Hillyer G.V., Knight W.B., Gomez de Rios I. and Woodall J.P.**, 1979. Intensity of infection with *Schistosoma mansoni*: its relationship to sensitivity and specificity of serologic tests. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28, 230-236.

164. **Ruppel A., Diesfeld H.J. and Rother U.**, 1985a. Immunoblot analysis of sera of *Schistosoma mansoni* antigens with sera of schistosomiasis patients: diagnostic potential of an adult schistosome proteins. *Clinical and Experimental Immunology*, 62, 499-506.
165. **Ruppel A., Rother U., Vongerichten H., Lucius R. and Diesfeld H.J.**, 1985b. *Schistosoma mansoni*: immunoblot analysis of adult worm proteins. *Experimental Parasitology*, 60, 195-206.
166. **Ruppel A., Shi Y.E., Wei D.X. and Diesfeld H.J.**, 1987. Sera of *Schistosoma japonicum*-infected patients cross-react with diagnostic 31/32 kD proteins of *S. mansoni*. *Clinical and Experimental Immunology*, 69, 2, 291-298.
167. **Ruppel A., Idris M.A., Sulaiman S.M. and Hilali A.M.H.**, 1990. *Schistosoma mansoni* diagnostic antigens (Sm 31/32): a seroepidemiological study in the Sudan. *Tropical Medicine and Parasitology*, 41, 127-130.
168. **Sabah A.A., Fletcher C., Webbe G. and Doenhoff M.J.**, 1986. *Schistosoma mansoni*: chemotherapy of infections of different ages. *Experimental Parasitology*, 61:294-303.
169. **Salter J.P., Lim K-C, Hansell E., Hsieh I. and McKerrow J.H.**, 2000. Schistosome invasion of human skin and degradation of dermal elastin are mediated by a single serine protease. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 49, 8, 38667-38673.
170. **Sansarricq H.**, 1959. La bilharziose à *Schistosoma haematobium* dans la région de Bobo Dioulasso en Haute Volta. *Médecine Tropicale*, 19, 345-349.
171. **Santos M.M., Garcia T.C., Orsini M., Disch J., Katz N. and Rabello A.**, 2000. Oral fluids for the immunodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94, 289-92.
172. **Sellin B., Simonkovich E. et Roux J.**, 1980. Etude de la répartition des mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes en Afrique de l'Ouest. Premiers résultats. *Médecine Tropicale*, 40, 1, 31-39.
173. **Sorgho H., Bahgat M., Poda J.N., Song W., Kirsten C., Doenhoff M.J., Zongo I., Ouédraogo J.B. and Ruppel A.**, 2005. Serodiagnosis of *Schistosoma mansoni* infections in an endemic area of Burkina Faso: performance of several immunological tests with different parasite antigens. *Acta Tropica*, 93, 169-180.

174. **Stelma F.F., Talla I., Ploman K., Niang M., Sturrock R.F., Deelder A.M. and Gryssels B.**, 1993. Epidemiology of *Schistosoma mansoni* infection in a recently exposed community in northern Senegal. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 6, 701-706.
175. **Stelma F.F., Talla A., Sow S., Kongs A., Niang M., Polman K., Deelder A.M. and Gryseels B.**, 1995. Efficacy and side-effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 53, 167-170.
176. **Stelma F.F., Sall S., Daff B., Sow S., Niang M. and Gryseels B.**, 1997. Oxamniquine cures *Schistosoma mansoni* infection in a focus in which cure rates with praziquantel are unusually low. *Journal of Infectious Diseases*, 176, 304-307.
177. **Stirewalt M.A.**, 1974. *Schistosoma mansoni* : cercaria to schistosomule. *Advances in Parasitology*, 12, 155-182.
178. **Takougang I., Louis J.P., Migliani R., Noumi E., Mohome N. et Ekobo A.S.**, 1993. Quelques aspects comportementaux de l'exposition à la bilharziose dans les aménagements hydroagricoles en zone sahélienne (extrême nord Cameroun). *Cahiers Santé*, 3, 457-63.
179. **Tarp B., Black F.T. and Petersen E.**, 2000. The immunofluorescence antibody test (IFAT) for the diagnosis of schistosomiasis used in a non-endemic area. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 185-191.
180. **Tchuem Tchuente L.A., Imbert-Establet D., Delay B. and Jourdane J.**, 1993. Choice of mate, a reproductive isolating mechanism between *Schistosoma intercalatum* and *S. mansoni* in mixed infections. *International Journal for Parasitology*, 23, 179-185.
181. **Tchuem Tchuente L.A., Southgate V.R., Imbert-Establet D. and Jourdane J.**, 1995. Change of mate and mating competition between males of *Schistosoma intercalatum* and *S. mansoni*. *Parasitology*, 110, 45-52.
182. **Tchuem Tchuente L.A., Morand S., Imbert-Establet D., Delay B. and Jourdane J.**, 1996. Competitive exclusion in human schistosomes: the puzzling restricted distribution of *Schistosoma intercalatum*. *Parasitology*, 113, 129-135.
183. **Tchuem Tchuente L.A., Southgate V.R., Jourdane J., Webster B.L. and Vercruysse J.**, 2003. *Schistosoma intercalatum*: an endangered species in Cameroon? *Trends in Parasitology*, 19, 9, 389-393.

184. **Théron A.**, 1984. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae : ecological significance in transmission to human and murine hosts. *Journal of Parasitology*, 70, 652-655.
185. **Toy L., Petit M., Wang Y.F., Hedstorm R. and McKerrow J.H.**, 1987. The immune response to stage-specific proteolytic enzymes of *Schistosoma mansoni*. *UCLA Symp Molecular and Cell Biology*, 60, 85-103.
186. **Trotobas J., Roux J., Sellin B. and Simonkovich E.**, 1977. Etat actuel de nos connaissances sur la répartition des bilharzioses urinaires et intestinales sur la base des enquêtes effectuées par le Centre Muraz dans les pays de l'OCCGE (Afrique de l'Ouest). *Doc. Tech. OCCGE*. N° 6440. 12p.
187. **Tsang V.C.W., Hancock K., Maddison S.E., Beatty A.L. and Moss D.M.**, 1984. Demonstration of species-specific and cross-reactive components of *Schistosoma mansoni* and *S. japonicum* (MAMA and JAMA). *Journal of Immunology*, 132, 2607-26.
188. **Utzing J., N'Goran E.K., Gnaka N., N'Dri A., Lengeler C. and Tanner M.**, 2000. Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection. *Tropical Medicine and International Health*, 5, 11, 771-778.
189. **Utzing J., Booth M., N'Goran E.K., Müller I., Tanner M. and Lengeler C.**, 2001. Relative contribution of day-to-day and intraspecimen variation in faecal egg counts of *Schistosoma mansoni* before and after treatment with praziquantel. *Parasitology*, 122, 537-544.
190. **Van Dam G.J., Stelma F.F., Gryseels B., Ferreira S.T.M.F., Talla I., Niang M., Rotmans J.P. and Deelder A.M.**, 1996. Antibody response patterns against *Schistosoma mansoni* in a recently exposed community in Senegal. *Journal of Infectious Diseases*, 173, 1232-1241.
191. **Van der Werf M.J., de Vlas S.J., Brooker S., Looman C.W.N., Nagelkerke N.J.D., Habbema J.D.F. and Engels D.**, 2003. Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta Tropica*, 86, 125-139.
192. **Van Etten L., Van Lieshout L., Mansour M.M. and Deelder A.M.**, 1997. A reagent strip antigen capture assay for the assessment of cure of schistosomiasis patients. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91, 154-155.

193. **Van Gool T., Vetter H., Vervoot T., Doenhoff M.J., Wetsteyn J. and Overbosch D.**, 2002. Serodiagnosis of imported schistosomiasis by a combination of commercial indirect hemagglutination test with *Schistosoma mansoni* adult worm antigens and an enzyme-linked immunosorbent assay with *S. mansoni* egg antigens. *Journal of Clinical Microbiology*, 40, 3432-3437.
194. **Van Lieshout L., Polderman A.M., de Vlas S.J., de Caluwé P., Krijger F.W., Gryseels B. and Deelder A.M.**, 1995a. Analysis of worm burden variation in human *Schistosoma mansoni* infections by determination of serum levels of circulating anodic and circulating cathodic antigen. *Journal of Infectious Diseases*, 172, 1336-1342.
195. **Van Lieshout L., Panday U.G., De Jonge N., Krijger F.W., Oostburg B.F.J., Polderman A.M. and Deelder A.M.**, 1995b. Immunodiagnosis of schistosomiasis mansoni in a low endemic area in Surinam by determination of the circulating antigens CAA and CCA. *Acta Tropica*, 59, 19-29.
196. **Van Lieshout L., Polderman A.M. and Deelder A.M.**, 2000. Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. *Acta Tropica*, 77, 69-80.
197. **Vennervald B.J. and Dunne D.W.**, 2004. Morbidity in schistosomiasis: an update. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17, 439-447.
198. **Voller A., Bartlett A. and Bidwell D.E.**, 1976a. Enzyme immunoassays for parasitic diseases. *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine and Hygiene*, 70, 98-106.
199. **Voller A., Bartlett A. and Bidwell D.E.**, 1976b. Practicable microplate enzyme immunoassays. *Protides and Biological Fluids*, 24, 754-758.
200. **Wang Y., Holmes E., Nicholson J.K., Cloarec O., Chollet J., Tanner M., Singer B.H. and Utzinger J.**, 2004. Metabonomic investigations in mice infected with *Schistosoma mansoni*: An approach for biomarker identification. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 101, 34, 12676-12681.
201. **Wang L., Li Y-L., Fishelson Z., Kusel J.R. and Ruppel A.**, 2005. *Schistosoma japonicum* migration through mouse skin compared histologically and immunologically with *S. mansoni*. *Parasitology Research*, 95, 218 - 223.

202. **Warren K.S.**, 1973. Regulation of the prevalence and intensity of schistosomiasis in man: immunology or ecology? *Journal of Infectious Diseases*, 127, 595-609.
203. **Weber M.C.**, 1973. Miracidial hatching in diagnosis of bilharziasis. *Central African Journal of Medicine*. 19, 11-17.
204. **Whitfield P.J., Bartlett A., Khammo N., Brain A.P.R., Brown M.B., Marriott C. and Clothier R.**, 2003. Delayed tail loss during the invasion of human skin by schistosome cercariae. *Parasitology*, 126, 135-140.
205. **Whitty C.J.M., Mabey D.C., Armstrong M., Wright S.G. and Chiodini P.L.**, 2000. Presentation and outcome of 1107 cases of schistosomiasis from Africa diagnosed in a non-endemic country. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 94, 531-534.
206. **Wilkins H.A., Goll P., De C. Marshall T.F. and Moore P.**, 1979. The significance of proteinuria and haematuria in *Schistosoma haematobium* infection. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73, 74-78.
207. **Wolmarans C.T., De Kock K.N., Strauss H.D. and Bornman M.**, 2002. Daily emergence of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* cercariae from naturally infected snails under field conditions. *Journal of Helminthology*, 76, 273-277.
208. **Woolhouse M.E.J.**, 1998. Patterns in parasite epidemiology : the peak shift. *Parasitology Today*, 14, 10, 428-434.
209. **Xiao S.H., Catto B.A. and Webster L.T.**, 1985. Effects of praziquantel on different developmental stages of *Schistosoma mansoni* in vitro and in vivo. *Journal of Infectious Diseases*, 151, 1130-1137.
210. **Xue C.G., Taylor M.G., Bickle Q.D., Savioli L. and Renganathan E.A.**, 1993. Diagnosis of *Schistosoma haematobium* infection: evaluation of ELISA using keyhole limpet haemocyanin or soluble egg antigen in comparison with detection of eggs or haematuria. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87, 654-658.
211. **Yasawy M.I., Mohamed A.R.E.S. and Karawi M.A.A.**, 1989. Comparison between stool examination serology and large biopsy in diagnosing *Schistosoma mansoni*. *Tropical Doctor*, 7, 132-134.
212. **Zussman R.A., Bauman P.M. and Petruska J.C.**, 1970. The role of ingested hemoglobin in the nutrition of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology*, 56, 1, 75-79.

OUVRAGES ET DOCUMENTS CONSULTÉS

Ancelle T., 2002. *Statistique Epidémiologie*. Ed : Maloine, Collection Sciences fondamentales, 300p

INSD, 1997. *Recensement général de la population et de l'habitation du Burkina Faso (du 10 au 20 décembre 1996). Population résidente des départements et provinces du Burkina Faso*. Institut National de la Statistique et de la Démographie.

Rollinson D. and Southgate V. R., 1987. *The genus Schistosoma: a taxonomic appraisal. In The Biology of Schistosomes. From Genes to Latrines*. ed. Rollinson, D. & Simpson, A. J. G., Academic Press, London. 1-49 pp.

OMS (Organisation Mondiale de la Santé), 1998. *Parasitologie médicale : technique de base pour le laboratoire*.

WHO (World Health Organization), 2002. *The control of schistosomiasis. Second report of the WHO expert committee*. World Health Organization Technical Report Series, N°. 912. WHO, Geneva.

Summary

Adequate detection and cure of infected subjects is necessary to ensure the success of any parasitic disease control program. In the case of intestinal schistosomiasis, the traditional count of the parasite eggs by microscopy has been shown not accurate and enough sensitive. Alternative ways are then necessary to strengthen the control programs in endemic areas. Elsewhere, the magnitude of schistosomiasis itself in the West part of Burkina Faso still established. The present report presents an evaluation of the magnitude of both urinary and intestinal schistosomiasis in two endemic areas the West Burkina Faso and the evaluation of serodiagnostic methods for intestinal schistosomiasis.

About 1185 inhabitants from the Banzon and Kou Valley of both sexes have been randomly enrolled in this study. All participants to this survey provided at least one sample each of stools, urines and serum. Three other test systems in addition to the parasitology of stool and urine were included in this study : indirect haemagglutination (IHA), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) and the indirect immunofluorescent antibody test (IFAT). The IHA was based on either *Schistosoma mansoni* adult worm extract (Sm-IHA) or *Schistosoma japonicum* egg antigen (Sj-IHA). For ELISA, five *S. mansoni* antigen preparations were used, soluble worm antigen (SWAP), soluble egg antigen (SEA), cationic egg antigen fraction 6 (CEF6), worm vomit (WoV) and cercarial secretions (CS). The IFAT was performed with *S. mansoni* male worm sections.

The Kato-Katz slides screening showed that both *S. mansoni* and *S. haematobium* were present at Banzon respectively at 18.8 % and 21.2 %. The situation was different in Kou Valley where only *S. mansoni* was found among enrolled subjects (48 %). *S. haematobium* was virtually absent in the valley as only 3 cases have been found after the filtration of 596 urines samples.

The performance of IHA, ELISA and the IFAT were compared with 455 sera obtained from the enrolled subjects in Kou Valley before and after chemotherapy. As we expected the ELISAs showed higher sensitivity than the IHAs with difference according to the antigen considered. The sensitivity of the ELISA tests except the CS (64 %) were all above 90 % and egg antigens performed slightly better (SEA, 96 % ; CEF6, 97 %) than SWAP (93.8 %) and WoV (94.6 %). The Sensitivity of IHA was satisfactory if homologous (Sm, >85%) but not if heterologous (Sj, 56%) parasite antigen was used. The IFAT performed as well as the ELISA. Hence all types of fluorescence were detected with the majority being "parenchymal fluorescence". Few sample showed gut-associated fluorescence.

Although almost all of the subjects excreting *S. mansoni* egg in their stool reacted with more than one antigen in ELISA and IHA, but no significant correlation between the egg excretion and the OD values in ELISA. Nevertheless we observed significant correlation between antigens of the same origin : SEA-CEF6 (R = 0.808) and SWAP-WoV (R = 0.912). Among the egg-negative individuals, many gave positive reactions in several or all of the tests.

Kato-Katz smear performed seven weeks after praziquantel treatment (40 mg/kg of body weight) revealed that some cure rates above 80 % for both *S. haematobium* and *S. mansoni*. The usage of the same serological tests on post chemotherapy sera obtained seven weeks after treatment showed that almost all of the treated subjects harbored antibody against the parasite antigens.

All these results demonstrate that serodiagnosis can be a valuable tool for schistosomiasis diagnosis in Burkina Faso. But some improvements are still needed in the area of the specificity of the tests and the conditions of usage of the present antigens in post chemotherapy situation. For the purpose of further surveys in Burkina or other resource-poor settings, we suggest IHA as tool and propose to improve its performance by including egg rather than worm antigens. Also other sources of biological fluid such as oral fluid and secretions can be investigated.

Key words : Schistosomiasis, Kato-Katz, serodiagnosis; *Schistosoma mansoni*; Indirecte haemagglutination assay (IHA), Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Indirect immunofluorescent antibody test (IFAT), Burkina Faso.