

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS**

<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ARN :</b>	Acide ribonucléique
<b>CCA :</b>	Circulating Anodic Antigen
<b>CSA :</b>	Circulating Schistosoma Antigen
<b>CT :</b>	Cycle de Threshold
<b>ml:</b>	Millilitre
<b>MTN :</b>	Maladies Tropicales Négligées
<b>Nmol :</b>	Nanomole
<b>OMS :</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>OMVS :</b>	Organisation pour la mise en valeur du fleuve Sénégal
<b>PCR :</b>	Polymerase chain reaction
<b>PCR RT :</b>	Real time polymerase chain reaction

# LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> Vers mâle et femelle adulte de <i>Schistosoma haematobium</i> .....	7
<b>Figure 2:</b> Œufs de <i>Schistosoma haematobium</i> .....	8
<b>Figure 3:</b> Cycle évolutif .....	11
<b>Figure 4:</b> <i>Bulinus truncatus</i> .....	12
<b>Figure 5:</b> Distribution géographique de la bilharziose dans le monde.....	14
<b>Figure 6:</b> Aspect macroscopique des urines en fonction de la densité parasitaire .	41
<b>Figure 7:</b> Moyenne de la densité parasitaire en fonction de l'hématurie microscopique.....	42
<b>Figure 8:</b> Moyenne de CT en fonction des quartiles de la densité parasitaire .....	43

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Répartition des patients selon le pays.....	33
<b>Tableau II:</b> Répartition des cas en fonction du sexe .....	34
<b>Tableau III:</b> Répartition de la population selon les villages au Mali .....	34
<b>Tableau IV:</b> Répartition de la population selon les localités au Sénégal.....	35
<b>Tableau V:</b> Répartition du sexe en fonction du village au Mali .....	36
<b>Tableau VI:</b> Répartition du sexe par village au Sénégal.....	36
<b>Tableau VII:</b> Aspect macroscopique des urines au Mali .....	37
<b>Tableau VIII:</b> Aspect macroscopique des urines au Sénégal.....	37
<b>Tableau IX:</b> Aspect microscopique des urines au Mali .....	38
<b>Tableau X:</b> Aspect microscopique des urines au Sénégal.....	38
<b>Tableau XI :</b> Densité parasitaire.....	39
<b>Tableau XII:</b> Densité parasitaire au Mali .....	39
<b>Tableau XIII:</b> Densité parasitaire au Sénégal.....	40
<b>Tableau XIV:</b> Résultats RT-PCR Mali.....	40
<b>Tableau XV:</b> Résultats RT-PCR Sénégal .....	41

# TABLE DES MATIERES

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>PREMIERE PARTIE.....</b>	<b>4</b>
I.1. Définition .....	5
I.2. Intérêt .....	5
II. Historique.....	5
III. Epidémiologie.....	6
1. Agents pathogènes .....	6
1.1. Classification .....	6
1.2. Morphologie .....	6
2. Biologie .....	8
2.1. Habitat .....	8
2.2. Cycle évolutif.....	8
2.3. Hôte intermédiaire .....	11
2.4. Réservoirs de parasites .....	12
2.5. Transmission.....	12
3. Facteurs favorisants .....	13
4. Répartition géographique .....	14
4.1. Dans le monde .....	14
4.2. Au Sénégal.....	15
4.3 Au Mali.....	15
IV. Pathogénie et anatomie pathologique .....	15
V. Manifestations cliniques.....	16
VI. Diagnostic de la bilharziose .....	18
1. Numération formule sanguine:.....	18
2. Diagnostic parasitologique.....	18

2.1. Diagnostic de la bilharziose urinaire .....	18
2.1.1. Prélèvement des urines.....	18
2.1.2. Examen après centrifugation .....	18
2.1.3. Examen après filtration .....	18
2.1.4. Numération des œufs.....	19
2.1.5. Test d'éclosion des œufs .....	19
3. Diagnostic immunologique .....	20
4. Diagnostic moléculaire .....	21
5. Diagnostic histologique.....	21
6. Examens complémentaires non biologiques .....	21
VII. Traitement .....	22
VIII. Prévention .....	24
<b>DEUXIEME PARTIE</b> .....	25
I. Méthodologie .....	26
1. Cadre d'étude.....	26
2. Population d'étude et critères d'inclusion : la population était constituée par tous les patients enquêtés qui avaient un résultat positif à <i>Schistosoma haematobium</i> dans les urines.....	27
3. Collecte des échantillons et examens de laboratoire :.....	27
4. Saisie et analyse des données .....	31
5. Aspects éthiques .....	31
<b>RESULTATS</b> .....	32
I. Données sociodémographiques.....	33
1. Répartition des cas en fonction de l'âge et du sexe :.....	33
2. Répartition des cas en fonction des villages : .....	34
II. Description des résultats parasitologiques et moléculaires des cas diagnostiqués :.....	37

1. Aspect macroscopique des urines.....	37
2. Description de l'hématurie microscopique par les bandelettes urinaires :.....	38
3. Description de la charge parasitaire par la microscopie :.....	39
4. Description de la charge parasitaire par la PCR en temps réel :.....	40
III. Comparaison des résultats parasitologiques et moléculaires :.....	41
1. Corrélation de la charge parasitaire avec l'aspect macroscopique des urines...	41
2. Corrélation de la charge parasitaire à l'hématurie microscopique.....	42
3. Corrélation de la charge parasitaire au CT .....	42
<b>DISCUSSION</b> .....	44
<b>CONCLUSION</b> .....	48
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	52
<b>ANNEXES</b>	

# INTRODUCTION

Deuxième endémie parasitaire après le paludisme, la bilharziose est une des maladies tropicales négligées (MTN). En 2018, elle touchait 230 millions de personnes à travers le monde avec une mortalité estimée à 150.000 par an [52]. La majorité des cas, soit 80 % se trouve en Afrique subsaharienne avec des zones de forte endémicité [52].

La prévalence est particulièrement plus élevée chez les enfants d'âge scolaire. Au Sénégal elle est de 80% dans les zones nord et de 40% dans les zones centre. A cette population, l'OMS recommande l'administration de masse du praziquantel tous les ans dans les zones où la prévalence se situe entre 50 et 80% [7]. Dans les zones où la prévalence est supérieure ou égale à 80%, l'OMS recommande de faire cette administration deux fois dans l'année. Une administration de masse tous les deux ans est recommandée pour les zones avec une prévalence inférieure à 50%. Et le taux de couverture thérapeutique est efficace à partir de 75% selon l'OMS [52].

Malgré la mise en œuvre de toutes ces recommandations depuis plusieurs décennies la bilharziose reste un problème de santé publique. Ceci malgré les efforts de sensibilisation de la population par divers programmes.

Certains facteurs pourraient expliquer sa persistance. En effet le taux de ré-infestation reste toujours élevé dans certaines localités. La prévalence chez la femme enceinte et l'enfant de moins de 5 ans est méconnue. De plus il y a une méconnaissance des souches qui circulent. Car il y a une possibilité d'hybridation entre les souches humaines et animales. A ces souches la sensibilité au praziquantel n'a pas été déterminée. Ce qui pourrait être à l'origine des phénomènes de résistance.

Pour toutes ces raisons, la mise en place d'outils de diagnostic performants s'impose. Parmi ces outils, la biologie moléculaire a montré sa supériorité par rapport à la microscopie dans la détection et l'identification des souches de *Schistosoma haematobium* et hybrides avec *Schistosoma bovis*. Dans l'optique de



renforcer la surveillance thérapeutique et la détection des cas dans les zones de faible prévalence, il est important d'évaluer la performance de la biologie moléculaire surtout dans la détermination de la charge parasitaire.

C'est dans ce cadre que nous nous sommes proposés de réaliser cette étude avec pour objectifs :

**Objectif général :** Evaluer le niveau de la charge parasitaire dans la bilharziose uro-génitale par les outils microscopiques et de biologie moléculaire.

**Objectifs spécifiques :**

Décrire les caractères sociodémographiques de la population d'étude au Mali et au Sénégal

Décrire les aspects parasitologiques et moléculaires des cas diagnostiqués au Mali et au Sénégal

Comparer les résultats de la charge parasitaire par la microscopie et par la PCR en temps réel.

# **PREMIERE PARTIE**

## **I.1. Définition**

Les bilharzioses sont des affections parasitaires dues à la présence, chez l'Homme, de vers plats (les bilharzies ou schistosomes), à sexes séparés et hémato-phages, vivant dans le système circulatoire [30].

## **I.2. Intérêt**

Deuxième endémie parasitaire mondiale après le paludisme, la bilharziose fait partie des maladies tropicales négligées [38]. En 2018, l'OMS estimait environ 150 000 décès dus à la schistosomiase par an et la transmission de la schistosomiase était avérée dans 78 pays [52]. Cependant, la chimiothérapie préventive pour la schistosomiase est seulement nécessaire dans 52 pays d'endémie modérée à forte transmission, zone où les populations sont ciblées par un traitement à grande échelle. Selon l'OMS, il y aurait 229,2 millions de personnes nécessitant un traitement en 2018 [52].

## **II. Historique**

### **- Dans le monde**

Déjà citée dans le papyrus d'Eber (1500 avant J-C), l'existence de *S. haematobium* a été établie par la découverte d'œufs calcifiés dans la vessie d'une momie égyptienne de la XX<sup>e</sup> dynastie (plus de 1000 ans avant J-C). Au moyen-âge, les médecins arabes parlent de « pissements de sang » des caravaniers revenant de Tombouctou, et ces hématuries sont également signalées par les chirurgiens qui accompagnent Bonaparte en Egypte. En 1882, Theodore Bilharz découvre et décrit *S. haematobium* [23].

## **- Au Sénégal**

C'est en 1908 que les premiers cas de schistosomiase urinaire ont été décrits par Bouffard et Neveux à Bakel. En 1923, M. Leger et E. Bédier décrivent des cas de schistosomiase urinaire à Dakar et posent leur diagnostic sur la base d'examens parasitologiques révélant les œufs à éperon terminal.

La schistosomiase urinaire, auparavant, très localisée dans la région du fleuve Sénégal (Saint-Louis et Guédé chantier) a également connu une expansion et une intensification des foyers existants avec apparition de foyers mixtes de schistosomiasés intestinale et urinaire dans le delta et la basse vallée au niveau du lac de Guiers. Récemment la présence de schistosomiase urinaire a été noté dans la zone de Richard-Toll [35, 41].

## **III. Epidémiologie**

### **1. Agents pathogènes**

#### **1.1. Classification**

Les schistosomes sont des métazoaires appartenant à l'embranchement des *Plathelminthes*, à la classe des *Trématodes*, au sous-ordre des *Distomiens* et à la famille des *Schistosomatidae*. Ce sont des vers plats non segmentés, sexués et hémato-phages, seize espèces ont été décrites comme étant capables d'infecter les vertébrés en général et pathogène pour l'homme [4, 5, 6].

#### **1.2. Morphologie**

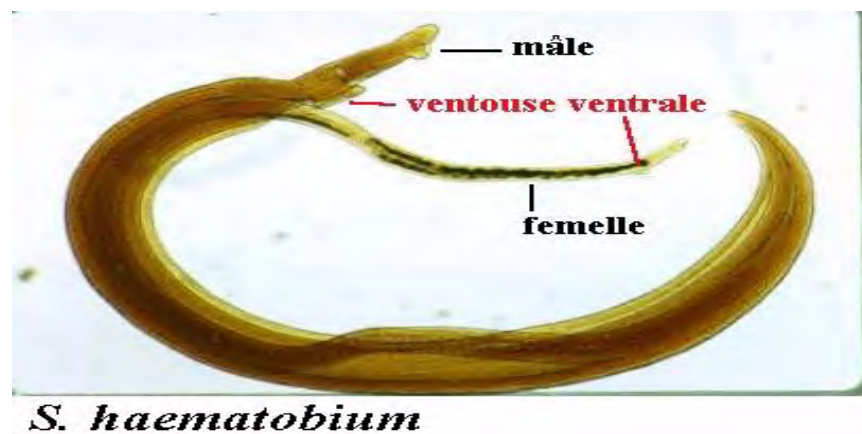
##### **Ver adulte de schistosome**

Le ver mâle mesure 6 à 20 mm de long suivant l'espèce. Il est cylindrique au niveau de son tiers antérieur qui porte deux ventouses ; le reste du corps est aplati et les bords latéraux se replient ventralement pour délimiter le canal gynécophore où loge la femelle. Les téguments sont couverts d'épines ou de tubercules.

La femelle mesure 7 à 20 mm de long ; elle est cylindrique, filiforme, plus long que le ver mâle de la même espèce, et sa surface est lisse.

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

Sauf au moment de la ponte, la femelle est placée dans le canal gynécophore. Les organes génitaux mâles et femelles sont situés face à face, permettant ainsi une copulation quasi permanente, au cours des déplacements du couple à contre-courant sanguin [4, 5, 6, 14, 33].

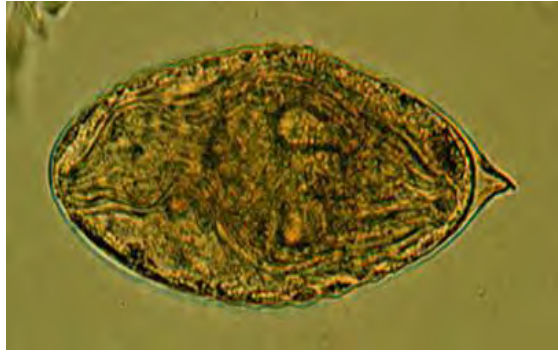


**Figure 1:** Vers mâle et femelle adulte de *Schistosoma haematobium* [23].

### **Les œufs de *Schistosoma haematobium***

Les œufs de *S. haematobium* sont ovalaires et mesurent respectivement 120-150 x 55-60  $\mu\text{m}$ . La coque de l'œuf est lisse, épaisse, transparente et percée de nombreux pores ultramicroscopiques ; elle entoure un embryon cilié et mobile, le miracidium, qui présente, dans sa région postérieure, de nombreuses cellules germinales.

Les œufs de *S. haematobium* portent à un des pôles, un éperon caractéristique. Ils sont pondus par paquets, dans la sous-muqueuse et sont éliminés avec les urines. La ponte journalière de chaque femelle est d'environ 300 œufs [5, 14, 33].



**Figure 2:** Œuf de *Schistosoma heamatobium* [23].

## **2. Biologie**

### **2.1. Habitat**

Les schistosomes adultes vivent dans les vaisseaux sanguins ; en particulier dans la veine porte où ils effectuent leur maturation et s'accouplent. Ils sont essentiellement sanguicoles et hématophages.

Les femelles, après fécondation, vont migrer pour effectuer leur ponte dans les petits vaisseaux qui irriguent les organes creux ayant une issue sur le milieu extérieur: plexus péri vésicaux pour *S. haematobium*.

Les œufs pondus dans les petits vaisseaux vont progresser jusqu'aux extrémités capillaires. Ils finissent par éroder la paroi capillaire grâce à leur éperon pointu et perforer la paroi de l'organe pour tomber dans la lumière de celui-ci. Ils sont alors évacués dans le milieu extérieur avec les urines [4, 5, 6, 14, 24, 33, 36].

### **2.2. Cycle évolutif**

#### **Chez le mollusque**

Les œufs éliminés ne peuvent poursuivre leur évolution que dans l'eau douce. Ils libèrent les embryons ou miracidiums qui, en absence de mollusques, peuvent survivre jusqu'à 18 heures dans l'eau douce. Chez le mollusque, le miracidium bourgeonne, donnant des sporocystes. La suite du développement

s'effectue dans l'hépto-pancréas et aboutit à la formation des furcocercaires, larves à queue fourchues de 500 micromètres de long. Celles-ci s'échapperont du mollusque pour passer dans l'eau avant de pénétrer chez l'hôte définitif. La durée totale du cycle chez le mollusque est d'un mois. La multiplication intense du parasite chez le mollusque (phénomène de polyembryonie) aboutit à la formation, à partir d'un seul miracidium, de milliers de cercaires qui émergent du mollusque aux heures chaudes de la journée, en général entre 10h et 16h en pays tropical. Ils peuvent vivre en eau libre pendant 24h au maximum [4, 5, 6, 14, 24, 33, 36].

### **Chez l'homme**

L'infestation de l'homme s'effectue lors des bains dans des eaux douces contaminées par des mollusques. Les cercaires se fixent sur l'épiderme grâce à leur ventouse antérieure munie d'épines. Cette pénétration est complète en 10 minutes environs. Le jeune schistosomule traverse la couche Malpighi suivant un trajet oblique, en lysant les cellules épidermiques, atteint le derme conjonctif et pénètre dans un petit vaisseau lymphatique ou dans une veinule. Le trajet du derme aux poumons se fait de façon passive, par transport lymphatique ou veineux, et l'arrivée dans les poumons est effective en 4 jours après la pénétration. De là, les schistosomules gagnent les veinules portes intra hépatiques par voie circulatoire, mais il est possible que certains atteignent le foie par un trajet trans tissulaire. La phase migratoire dure au total 10 à 21 jours. Seuls les schistosomules qui atteignent les veinules portes intra hépatiques vont pouvoir poursuivre leur développement jusqu'à la différenciation et la maturité sexuelle (en 3 semaines environ). Par contre, ceux qui se perdent dans d'autres organes resteront à l'état immature.

Des veinules portes intra hépatiques, le couple de schistosomes se déplace à contre-courant vers les lieux de ponte. Le trajet s'effectue par la veine mésentérique inférieure, et enfin par la veine hémorroïdale supérieure vers le

plexus hémorroïdal *S. haematobium* va poursuivre sa route par les anastomoses entre le plexus hémorroïdal et les plexus vésicaux, vaginaux, et de Santorini, et s'arrêtera principalement au niveau du plexus vésical. Arrivée dans les veinules des plexus, la femelle quitte le mâle pour s'engager dans les fines ramifications veineuses des parois vésicales ou intestinales, et remonter jusqu'à la sous-muqueuse où elle commence sa ponte.

Les œufs pondus peuvent avoir trois destinées. Ceux qui réussissent leur migration vont pouvoir traverser la muqueuse et tombes alors dans la lumière de la vessie. Ils seront éliminés avec les urines et, après éclosion, les miracidiums pourront infester le mollusque-hôte intermédiaire. Les œufs bloqués dans les tissus vont rester vivants pendant environ 25 jours et détermineront la formation d'un granulome bilharzien. Enfin, d'autres œufs vont être emportés passivement par le courant veineux et iront s'emboliser dans les veinules portes intra hépatiques, dans les poumons et d'autres organes et y induiront également la formation de granulomes [4, 5, 6, 14, 24, 33, 36].



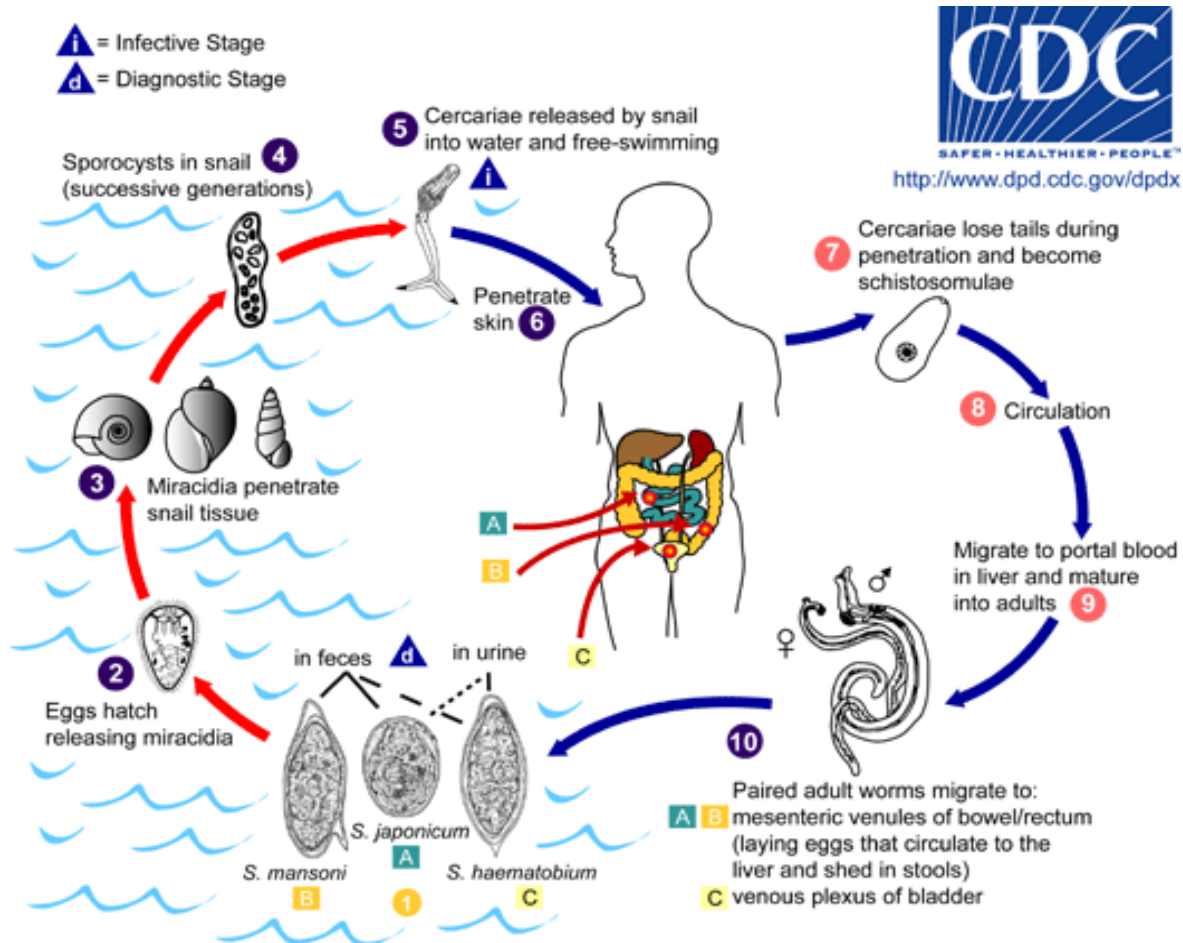


Figure 3: Cycle évolutif [39].

### 2.3. Hôte intermédiaire

Les œufs de bilharzies rejetés dans le milieu extérieur lors de l'émission des urines vont éclore dans l'eau douce, si les conditions favorables sont réunies (température à 25-30 C, ensoleillement, ph neutre). Le miracidium libéré va nager à la recherche de son hôte intermédiaire spécifique, le mollusque pulmoné aquatique Bulin du genre *Bulinus*. Les bulins sont des mollusques à coquille globuleuse, à ouverture senestre sans opercule. Les principaux hôtes intermédiaires sont *B. truncatus*, *B. globosus*, *B. africanus*. Le gîte du mollusque se trouve toujours dans des eaux peu profondes, stagnantes ou faiblement courantes, riches en matières organiques et comportant une végétation aquatique qui sert de support et de nourriture aux

mollusques. La température de l'eau doit être comprise entre 25 et 30 °C. Par contre, le pH et la salinité peuvent varier dans de larges proportions. Les mollusques préfèrent les eaux ombragées, ils vivent en général à 20 ou 30 cm de profondeur sur les tiges des plantes, les feuilles mortes ou dans la boue du fond. Certaines espèces de bulins, sont très résistantes à la sécheresse. En saison sèche, la densité de mollusques est élevée dans les gîtes permanents [6, 14, 24, 33, 36, 55]



**Figure 4:** *Bulinus truncatus*

#### **2.4. Réservoirs de parasites**

*S. haematobium* est un parasite strictement humain, des rongeurs sauvages, des babouins.

#### **2.5. Transmission**

L'infestation de l'homme par les schistosomes s'effectue par contact avec de l'eau contaminée par des furcocercaires nageant infectants qui pénètrent activement à travers la peau. Les gîtes de transmission de la maladie sont les eaux stagnantes, les bords des rivières, les berges de lacs, les canaux d'irrigation.

Les pêcheurs, les cultivateurs, les riziculteurs et les ouvriers qui entretiennent les canaux d'irrigation sont les personnes les plus à risque. Les femmes, en raison de leur fréquentation quotidienne de lieux à risque pour les tâches ménagères, sont plus atteintes que les hommes. Enfin, les enfants sont bien plus touchés que les adultes, car ils se baignent et jouent plus souvent dans les marigots, notamment aux heures chaudes où l'émission cercarienne est la plus intense [6, 14, 23, 24, 25, 33, 36]

### **3. Facteurs favorisants**

#### **➤ D'ordre général**

Ce sont les conditions écologiques qui favorisent la présence et la pullulation des hôtes intermédiaires :

- les grands travaux d'irrigation
- les conditions climatiques : qui ont une influence sur d'autres facteurs comme la végétation, le réseau hydrique, les mouvements de population, etc.
- Le type de sols : les sols acides, hydromorphes
- les eaux stagnantes contenant des végétations
- la température ambiante entre 25 et 28°C
- l'importance de la main d'œuvre.

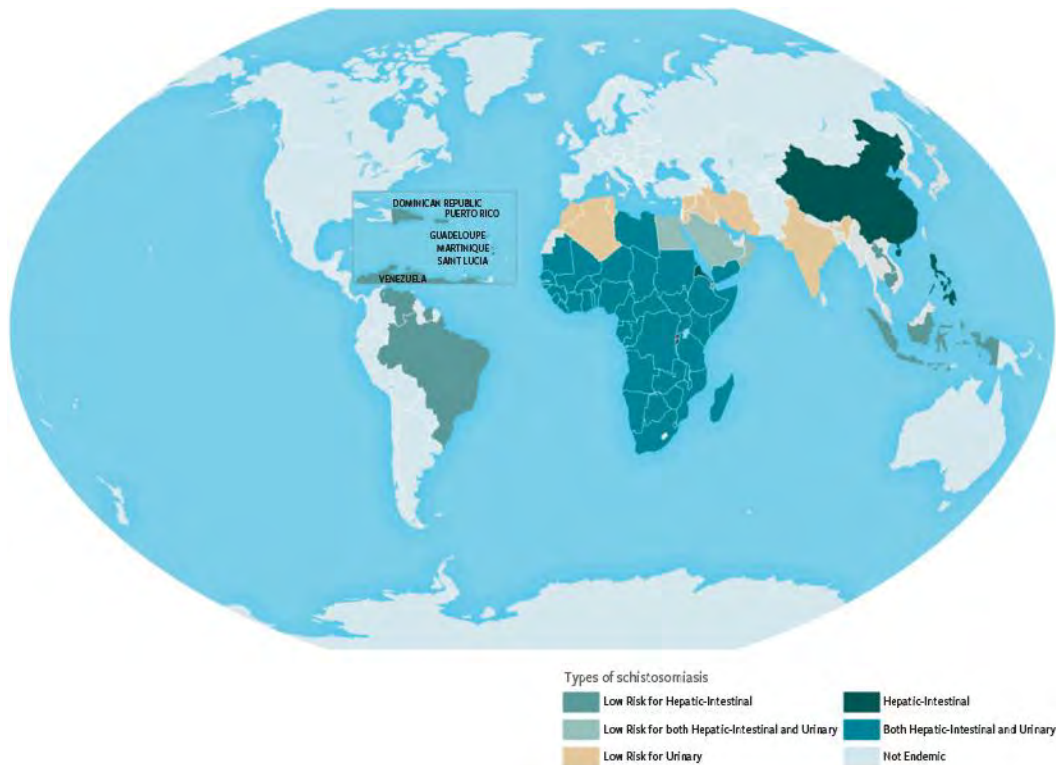
#### **➤ D'ordre individuel**

- la durée du séjour dans l'eau qui entraîne le ramollissement de la peau
- L'âge, surtout les enfants
- le sexe ne joue que dans les habitudes domestiques
- Les déplacements des populations
- La profession: cultivateurs, pêcheurs, riziculteurs [41, 43, 49]

## 4. Répartition géographique

### 4.1. Dans le monde

La bilharziose à *S. haematobium* atteint une centaine de millions de personnes en Afrique. Les principales zones d'endémie sont la vallée du Nil, l'Afrique intertropicale, notamment l'Afrique de l'Ouest et du Sud. Elle sévit également au Maghreb en petits foyers (Sud de la Tunisie, de l'Algérie et du Maroc) à Madagascar (côte ouest) et à l'Ile Maurice. Il existe des foyers limités au Yémen, au Moyen-Orient, et en Inde (au Sud de Bombay). Les zones d'endémie sont dispersées au gré de la répartition des bulins. La quasi-totalité de leurs habitants est parasité dès l'enfance ; à tel point que l'hématurie est considérée, dans certaines ethnies, comme un phénomène physiologique normal [4, 5, 6, 14, 24, 33, 36].



**Figure 5:** Distribution géographique de la bilharziose dans le monde

Source: [yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/schistosomiasis](http://yellowbook/2020/travel-related-infectious-diseases/schistosomiasis)

## **4.2. Au Sénégal**

Au Sénégal, la maladie est rencontrée dans la plupart des régions du pays avec des pics de prévalence de plus de 80% au Nord où la transmission est pérenne et 50% au centre du pays dans les foyers de transmission saisonnière [29].

## **4.3 Au Mali**

La schistosomiase est endémique dans de nombreuses régions du pays. Mais les niveaux de transmission sont très variables d'une région à une autre et d'un village à un autre dans la même zone bioclimatique. Présentement, le Mali a un taux de prévalence global de 30% avec une différence entre les différentes zones endémiques. Les zones hyper endémiques qui sont les terres irriguées de l'Office du Niger à Ségou, le plateau Dogon avec des petits barrages, le bassin du fleuve Sénégal ont une prévalence supérieure à 50%. Les zones soudaniennes et nord soudaniennes sont moins touchées avec une prévalence de 10% [31].

## **IV. Pathogénie et anatomie pathologique**

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

Les œufs sont responsables de la plupart des lésions anatomopathologiques en induisant la formation du granulome bilharzien. Centré par un œuf (d'abord vivant) embolisé dans un capillaire, ce granulome est formé d'éosinophiles et d'histiocytes puis de cellules épithélioïdes et géantes, enfin de fibroblastes. L'ensemble évolue vers la sclérose puis la calcification. Les lésions siègent dans la muqueuse, la sous muqueuse et parfois la musculature de la vessie, des uretères et

des organes génitaux pour *S. haematobium*, de l'intestin pour les quatre autres schistosomes.

La présence d'œufs vivants dans les tissus est indispensable à la formation des granulomes qui sont en rapport avec une réaction d'hypersensibilité retardée spécifique de l'espèce de parasite et faisant intervenir des lymphocytes T. Elle est induite par la sécrétion d'antigènes d'œufs provenant des glandes du miracidium qui forment, avec les anticorps spécifiques, des précipités péri-ovulaires (substance éosinophile de Hoepli). L'antigène soluble d'œufs stimule les lymphocytes T dont certains sécréteront des lymphokines inhibant la migration des macrophages et des éosinophiles. Cet antigène permet de sensibiliser aussi les éosinophiles et d'entraîner la synthèse d'anticorps Ig E. Au fur et à mesure des réinfestations, il se produit un phénomène de désensibilisation aboutissant, dans les infections chroniques, à la disparition de toute réaction cellulaire autour des œufs [4, 5, 6, 14, 24, 28, 29, 33, 34, 36].

## **V. Manifestations cliniques**

### **❖ Symptomatologie commune**

#### **- Phase de pénétration ou phase initiale**

Elle correspond à la pénétration transcutanée des furcocercaires. C'est la dermatite cercarienne, le plus souvent très discrète voire inapparente.

#### **- Phase d'invasion :**

Elle est contemporaine de la migration et des transformations de la schistosomule. Elle se manifeste par une fièvre, des sueurs, et des céphalées. A cela s'ajoutent des phénomènes urticariens, des arthralgies et myalgies, des œdèmes fugaces, de la toux et de la dyspnée, ainsi que de la diarrhée.

### **❖ Phase aiguë**

Les manifestations uro-génitales de la période d'état se manifestent par :

**Atteinte vésicale :** C'est la localisation la plus fréquente et la plus parlante, mais aussi l'une des moins graves. Cliniquement, la dysurie et la pollakiurie sont précoces, diurnes et nocturnes. Des douleurs sus-pubiennes, exacerbées par la miction, obligent parfois le malade à se courber en deux, et peuvent donner l'impression « d'urines chaudes ». Les hématuries sont quasi constantes mais capricieuses : typiquement terminales, elles sont très abondantes et alors totales, ou au contraire minimales. La constatation fortuite d'une hématurie microscopique ou d'une fausse protéinurie est fréquemment révélatrice [12, 13, 14, 16].

**Atteinte urétrale :** Elle détermine exceptionnellement des douleurs lombaires ou des crises de coliques néphrétiques. Elle peut se compliquer de surinfection, de péri urétérite ou de lithiase urétérale, et retentir sur les reins.

**Atteinte rénale :** L'hydronéphrose et la néphrite interstitielle par infection ascendante sont fréquentes. On peut observer des néphropathies glomérulaires, se présentant comme des syndromes néphrotiques. Toutes ces lésions conduisent à l'insuffisance rénale qui représente le terme évolutif des bilharzioses à *S. haematobium*.

**Atteinte urétrale :** Elle se traduit par des écoulements riches en œufs, des urétrorragies, des rétrécissements urétraux, ou des fistules périnéales.

**Atteinte génitale :** Elle est cliniquement assez fréquente et anatomiquement quasi constante. Chez l'homme, elle se manifeste par une épидidymite, une spermatozystite, une prostatite. Chez la femme, au niveau du vagin ou du col de l'utérus, on observe tantôt des granulations, tantôt des lésions inflammatoires, ulcérées ou pseudo tumorales, une endométrite [4, 5, 6, 9, 10, 11, 14, 19, 20, 21, 23, 24, 33, 34, 35, 36].

## **VI. Diagnostic de la bilharziose**

### **1. Numération formule sanguine:**

L'hyperéosinophilie n'a qu'une valeur d'orientation. Très élevé en phase toxémique, elle se stabilise ensuite entre 2 et 15 p. 100. Sous l'effet du traitement, elle augmente brusquement, atteignant vers le 15<sup>e</sup> jour des taux de 40 à 50p. 100, puis revient à la normale en quelques semaines ou mois.

### **2. Diagnostic parasitologique**

#### **2.1. Diagnostic de la bilharziose urinaire**

##### **2.1.1. Prélèvement des urines**

Les urines seront recueillies de préférence le matin lors de la première miction après un effort : marche, montée d'escalier, sautillerment ou massage pelvien. On peut également prélever les urines de 24 heures.

Les œufs de *S. haematobium* se rencontrent en plus grande quantité en fin de miction.

##### **2.1.2. Examen après centrifugation**

On centrifuge 10 ml d'urines à 3000 tours /minute pendant 5 à 10 minutes. On prélève ensuite le culot avec une pipette Pasteur et on l'examine aux grossissements 10 et 40.

##### **2.1.3. Examen après filtration**

Avec une seringue en plastique, on filtre 10 ml d'urines à travers une membrane millipore contenant un filtre en papier, en polycarbonate ou en nylon. Le filtre est ensuite placé entre lame et lamelle et observé au faible grossissement. On peut faire un examen après coloration au Ziehl Neelsen ou Vert de méthyl. Dans les enquêtes épidémiologiques, on peut laisser le filtre se dessécher et l'examiner plus



tard après l'avoir réhydraté par une solution de lugol à 1% [4, 5, 6, 14, 15, 24, 33, 36, 37].

#### **2.1.4. Numération des œufs**

**Technique de centrifugation :** On centrifuge 10 ml d'urines à 1500 t/mn pendant 5 minutes. On prélève à l'aide d'une pipette Pasteur le sédiment qui est placé sur une lame. On compte tous les œufs présents dans le sédiment.

**La technique de filtration de Plouvier et le Roy-Colette :** On prélève 10 ml d'urines avec une seringue graduée. Ces urines sont filtrées à l'aide d'un filtre millipore qui peut être une membrane de polycarbonate (Nucléopore) ou de polyamide tissé (filtre Nytrex). Le filtre est déposé sur une lame qui sera colorée avec une goutte de lugol et tous les œufs présents sur le filtre sont comptés. Le comptage peut être différé et effectué sur des filtres secs après ré-humidification. Cette numération des œufs permet de d'évaluer l'intensité de l'infestation. On considère :

- négatif : absence d'œuf
- faible intensité: 1 - 49 œufs par 10 ml d'urine,
- forte intensité :  $\geq 50$  œufs par 10 ml d'urine [4, 5, 6, 14, 24, 33, 37, 47].

#### **2.1.5. Test d'éclosion des œufs**

**Principe :** Ce test est effectué en cas de positivité des premiers examens. Il permet de rechercher la viabilité des œufs retrouvés.

**Technique :** Le sédiment urinaire issu de la centrifugation des urines est placé dans un tube à essai. Quelques ml d'eau physiologique y sont ajoutés puis le tube est placé sous une lampe ou en plein soleil à 28°-30°C environ. Les œufs viables libèrent chacun un miracidium qui se déplace dans l'eau. Les œufs morts, calcifiés ou détruits in vivo chez l'hôte par un traitement, n'éclosent pas [14, 15, 25, 40].

### 3. Diagnostic immunologique

Les techniques couramment utilisées font appel à des antigènes figurés ou à des antigènes solubles. On peut aussi détecter les antigènes circulants.

Intérêts : Elles permettent un diagnostic en phase toxémique alors que les femelles n'ont pas encore commencé à pondre des œufs ou en cas d'échec des méthodes parasitologiques directes [14, 15, 24, 25, 28].

- **Réaction pericercarienne de Vogel et Minning** : On fait agir le sérum du malade sur des furcocercaires vivantes. Le décollement de la membrane pericercarienne traduit la présence d'Anticorps. C'est une méthode sensible qui permet un diagnostic précoce dès les premières semaines de la parasitose.
- **Réaction Circum Ova d'Oliver Gonzales** : Elle consiste à confronter le sérum du patient à des œufs vivants qui s'entourent de précipité digitiforme si la réaction est positive.
- **Hémagglutination** : Cette réaction utilise les mêmes antigènes et fait appel à des hématies de mouton servant de support.
- **Immunofluorescence Indirecte (IFI)** : Cette méthode utilise des coupes à la congélation de schistosomes adultes. Elle est très sensible et très spécifique. Elle permet le diagnostic précoce dès la phase d'invasion. Après un traitement spécifique, la montée des titres d'anticorps, voire leur positivité, constitue un test d'efficacité thérapeutique.
- **Détection d'Antigènes circulants** : Plusieurs antigènes peuvent être mis en évidence.
  - ✓ Circulating Anodic Antigen(CAA) ou Circulating Schistosoma Antigen (CSA) : Il est Retrouvé dans le sérum et les urines. Sa concentration est linéaire à la charge parasitaire.

- ✓ Le Circulating Cathodic Antigen (CCA) : Il est excrété dans les urines à un taux proportionnel au nombre d'œufs éliminés. La détection peut se faire à l'aide de bandelette réactive [3, 4, 5, 6, 14, 24, 33, 36].

#### **4. Diagnostic moléculaire**

Le but du diagnostic moléculaire au cours des schistosomoses est de mettre en évidence, une molécule spécifique de chacune des espèces de schistosomes parasites de l'homme ou d'animaux ainsi que des hybrides jusque-là inconnus, et cela, dès la Schistosomoses. Pour y parvenir, on se réfère essentiellement à la détection de l'ADN et de l'ARN des schistosomes par la technique de PCR (Polymerase Chain Reaction) dans le sérum, les urines, les sécrétions génitales chez la femme, et les ponctions-biopsies [14, 17, 22, 27].

#### **5. Diagnostic histologique**

On prélève sous rectoscopie, un morceau de muqueuse rectale qu'on écrase ensuite entre 2 lames et qu'on examine au microscope après l'avoir éclairci par une goutte de chloral ou de lactophénol. Cette méthode est très souvent positive quel que soit l'espèce de schistosomes, et permet de déterminer la viabilité des œufs. Elle met en évidence une réaction cellulaire centrée sur un œuf avec présence de granulocytes, neutrophiles et éosinophiles, des plasmocytes, de lymphocytes, d'histiocytes et de cellules géantes. Cette réaction est la réponse de l'hôte aux protéines du miracidium [14, 15].

#### **6. Examens complémentaires non biologiques**

Une radiographie d'abdomen sans préparation peut objectiver tardivement des calcifications.

L'échographie rénale et vésicale en cas d'atteinte à *Schistosoma haematobium*, permet d'évaluer la dilatation des voies urinaires, la taille des reins et du parenchyme, les nodules et calcifications de la vessie.

Un uroscanner s'envisage en cas d'intervention chirurgicale devant des sténoses urétérales, une hydronéphrose.

La cystoscopie-biopsie permet le diagnostic des pseudos polypes et leur exérèse.

Un examen gynécologique et une échographie endovaginale : en cas de doute concernant une atteinte gynécologique un examen complet clinique et échographique est nécessaire. Il permettra le bilan lésionnel et des prélèvements en cas de doute diagnostique (néoplasie) [20, 26].

## **VII. Traitement**

### **• Le Praziquantel**

Le Praziquantel a la caractéristique unique d'être efficace dans le traitement des infestations dues à des schistosomes de toutes espèces (ainsi que la plupart des autres trématodes et cestodes). La sécurité et l'efficacité du médicament en administration unique par voie orale l'ont également rendu promoteur du traitement de masse de plusieurs de ces infestations. Le seul frein à son utilisation reste son prix élevé.

#### **- Mode d'action**

En dépit de sa courte demi-vie plasmatique, le praziquantel est le produit le plus actif sur les schistosomes ; ses métabolites sont inactifs. Des arguments obtenus in vivo suggèrent que les anticorps développés par l'hôte sont essentiels pour éliminer les parasites.

La concentration sérique minimale de praziquantel nécessaire à l'effet thérapeutique est environ de 1 nmol/ml. L'action du praziquantel in vitro sur tous

les plathelminthes semble la même: le médicament augmente la perméabilité de la membrane cellulaire au calcium, provoquant une contraction nette, suivie par une paralysie de la musculature du ver. Une vacuolisation et une désintégration des anneaux surviennent et il s'ensuit la mort du parasite.

- Posologie

Les comprimés de Praziquantel sont pris avec du liquide après un repas; il convient de les avaler immédiatement sans les mâcher en raison de leur goût amer qui peut provoquer des nausées ou des vomissements. Si le médicament est pris plus d'une fois le même jour, l'intervalle entre les administrations ne devrait être ni inférieur à 4 heures ni supérieur à 8 heures.

Le Praziquantel est le médicament de choix pour toutes les schistosomoses. La posologie est de 40mg/Kg en prise unique pour toutes les espèces de schistosomes. Des taux élevés de guérison sont obtenus quand les malades sont évalués au bout de 3 à 6 mois; il existe une réduction nette du nombre d'œufs chez ceux qui ne sont pas guéris. Les schistosomes ne semblent pas développer de résistance au Praziquantel.

- Contre-indications et précautions d'emploi:

La seule contre-indication spécifique du Praziquantel est la cysticercose oculaire; la destruction du parasite dans l'œil peut provoquer un dommage irréparable.

Le Praziquantel est aussi commercialisé sous le nom de Biltricide ou Cysticide"

- **Le métrifonate**

Le métrifonate (Bilarcil®) est un autre médicament possible, sûr et peu coûteux pour le traitement des infestations à *Schistosoma haematobium*. Il n'est quasiment plus utilisé pour le traitement de masse, mais reste très intéressant pour le traitement de quelques malades.

- **Le niridazole**

Le niridazole (Ambilhar") a longtemps été l'antibilharzien de référence. On doit encore en parler puisqu'il persiste dans les pharmacies des dispensaires et hôpitaux de nombreux pays en développement, notamment en Afrique. Son efficacité moyenne et ses effets secondaires potentiellement graves, rendent son utilisation sporadique.

## **VIII. Prévention**

Les mesures préventives reposent sur :

- L'éducation sanitaire : L'éducation sanitaire et l'apprentissage de l'hygiène sont des moyens à part entière de la lutte contre des bilharzioses, et ils doivent être réalisés avec autant de soin que le traitement médicamenteux afin d'assurer une efficacité dans le temps.
- L'assainissement du milieu et l'approvisionnement en eau.

Le principal facteur de transmission et de dissémination des bilharzioses est constitué par l'eau; elle est indispensable pour l'éclosion des œufs des schistosomes, pour la survie du mollusque hôte intermédiaire et pour l'infestation de l'homme.

- Il faut éviter les baignades dans les eaux contaminées : les laveries et les douches facilitent la réduction des contacts avec l'eau contaminée.

La destruction de l'hôte intermédiaire par l'utilisation de molluscicides et de moyens physiques: désherbage, suppression des obstacles à l'écoulement de l'eau [14, 20, 22, 53, 54].

## **DEUXIEME PARTIE**

## **I. Méthodologie**

### **1. Cadre d'étude**

L'étude s'est réalisée dans le cadre d'une enquête de prévalence de la bilharziose financée par l'OMVS au Sénégal et au Mali dans la période allant du 15 Mars au 15 Avril 2019. Les échantillons ont été collectés au Sénégal et au Mali.

Au Sénégal les sites de collecte se trouvaient dans les départements de Matam et Koumpentoum.

#### **Matam :**

Situé entre 14°20 et 16°10 de latitude nord, 12°40 et 14°60 de longitude ouest. La population était de 305 655 habitants [1] avec une superficie de 12 280 ha. Les eaux de surface sont constituées par le fleuve Sénégal (qui longe la région sur environ 200 km à l'est et au nord) et ses principaux défluent que sont le Diamel et le Diolol. A cela il faut ajouter de nombreux marigots et mares temporaires et permanents disséminés dans la région. Les communes du département de Matam sont : Matam, Ourosogui, Thilogne et Nguidilogne. L'agriculture, l'élevage constituent les principales activités économiques: 90% de la population. La sylviculture, la pêche, l'artisanat et le commerce y sont également importants. Le département de Matam compte 2 hôpitaux, 2 centres de santé, 36 postes de santé, 27 cases de santé. [1]

Notre étude s'était déroulée sur les sites de Diamel, Woudourou qui se trouve dans la commune de Matam. Les sites de Sylla Ndiongto, Ndiaffane Sorokoume, Oréfondé et kobilo qui se trouve dans la commune de Thilogne.

#### **Koumpentoum :**

Situé dans la région de Tambacounda, Koumpentoum compte 2 communes (Koumpentoum et Malem Niani) et 287 villages. Sa superficie était de 6 471 km<sup>2</sup> avec une population de 127 536 habitants. La région de Tambacounda est arrosée par un réseau hydrographique important constitué par le fleuve Sénégal, la Falémé,



le fleuve Gambie ainsi que plusieurs affluents et marigots. L'agriculture, l'élevage, le commerce et le tourisme sont les principales activités économiques. Le département compte 17 centres et postes de santé et 22 cases de santé [2].

Les localités de Kahéne, Méréto, Payar où se s'étaient déroulées notre étude se trouvent dans la commune de Koumpentoum.

### **Au Mali :**

L'enquête s'était déroulée dans la région de Kayes. Cette région se trouve à l'ouest du pays. Elle couvre une superficie de 120 760 km<sup>2</sup> pour une population de 2 516 742 habitants. Kayes est divisé en 7 cercles (Bafoulabé, Diema, Kayes, Kénieba, Kita, Nioro, Yélimané) et totalise 1565 villages. Le réseau hydrographique est composé, du fleuve de Bafing avec le barrage de Manantali, de cours d'eau permanents (Falémé et Baoulé) et de rivières non permanents (complexe lac TKLM Térékolé, Kolimbiné, lac Magui). L'agriculture, l'élevage et la production minière sont les principales activités économiques.

Les sites de Diema, Dianguirdé et Torodo se trouvent dans le cercle de Diema. La localité de Dingui Raga Logo se trouve dans le cercle de Kayes. Sitokoto se trouve dans le cercle de Bafoulabé [56].

**2. Population d'étude et critères d'inclusion :** la population était constituée par tous les patients enquêtés qui avaient un résultat positif à *Schistosoma haematobium* dans les urines.

### **3. Collecte des échantillons et examens de laboratoire :**

- Collecte : des prélèvements d'urine ont été effectués pour réaliser les analyses biologiques. Ces prélèvements se faisaient dans des pots propres et secs. Les pots ont été remis aux enfants et récupérés par la

suite. La collecte s'est effectuée en milieu de journée après un petit effort physique (sautillement sur place). Les prélèvements ont été conservés au frais avant d'être acheminés au laboratoire.

- Examen macroscopique d'abord des urines a été fait. Ceci a permis de les classer en urine claire, trouble ou hématurique.
- Bandelettes hémastix

La micro-hématurie positive a été définie comme un échantillon d'urine présentant une réaction de couleur de trace ou de bande de réactif positive : *Schistosoma haematobium*

- Examen microscopique des urines

La technique de filtration des urines a été utilisée dans cette étude. Une quantité de 10 ml d'urine déjà homogénéisée a été prélevée puis filtrée à l'aide d'un support filtre. Ensuite, les filtres ont été colorés avec une goutte de lugol avant l'examen microscopique et le décompte des œufs à l'aide d'un microscope optique au grossissement 10 (Annexe). Les résultats ont été reportés comme suit :

Négatif : 0 œuf/10ml d'urine

Infestation faible à modérée : 1 – 49 œufs/10ml d'urine

Forte infestation :  $\geq 50$  œufs/ 10 ml d'urine

- **Analyses moléculaires**

Nous avons réalisé une PCR en temps réel pour tester tous les échantillons d'urines. Pour y parvenir, nous avons utilisé un thermocycleur de type CFX96/Bio-Rad en plus des autres matériels nécessaires pour réaliser une PCR (centrifugeuse, plaque, tube eppendorf, pipette, embout, vortex).

Les différentes étapes suivantes ont été réalisées :

**Extraction de l'ADN (Kit ZYMO) :** elle se fera en 3 étapes

- Précipitation :

Un volume de 250 ul d'urine a été prélevé auquel 70ul Urine conditioning Buffer pour chaque 1 ml d'urine. Le tout a été passé au vortex. Nous avons ajouté 10 ul Clearing Beads puis avons mélangé le tout par vortex. Nous avons centrifugé notre mélange à 3000 tours/mn pendant 15 minutes.

- Digestion des protéines :

Le procédé suivant a été utilisé pour la digestion des protéines

Enlever 100 ul du surnageant par pipetage.

Ajouter 100 ul Urine Pellet Digestion Buffer puis mélanger par vortex.

Ajouter 10 ul de Proteinase K puis mélanger par vortex. Ensuite incuber à 55 °C pendant 30 minutes.

- Purification ADN

La centrifugation à 16000 tours/mn a été faite après chacune des étapes suivantes à savoir :

Ajouter 210 ul de Genomic Lysis Buffer puis mélanger par vortex.

Transférer l'échantillon dans une colonne (ZYMO-Spin) placée dans un tube collecteur et centrifuger pendant 1 minute.

Ajouter 200 ul Urine DNA Prep Buffer et centrifuger pendant 1 minute.

Ajouter 700 ul Urine DNA Wash Buffer à la colonne puis centrifuger pendant 1 minute.

Refaire l'opération précédente avec 200 ul Urine DNA Wash Buffer.

Transférer la colonne dans un tube d'ependorf puis ajouter 100 ul DNA Elution Buffer. Laisser le tout pendant 5 minutes à l'air ambiant puis centrifuger à vitesse maximale pendant 1 minute.

Le gène ciblé était le Dra 1 avec les séquences d'amorce suivantes :

Amorces : ( 5'-3' )

Sh-F GAT CTC ACC TAT CAG ACG AAA C

Sh-R TCA CAA CGA TAC GAC CAA C

La sonde: 5' 6-FAM

TGT TGG TGG AAG TGC CTG TTT CGC AA

- **Amplification génique:**

La PCR en temps réel a été faite dans un volume total de 20 µl. Ce volume était constitué de 3,5 µl d'eau pure, de 0,5 µl de chaque amorce (sens et anti-sens), de 0,5 µl de la sonde TaqMan™, de 10 µl de Mix (Taq Polymérase, UTP) et de 5 µl de l'ADN.

L'analyse a été programmée pour 40 cycles et s'était faite en utilisant la Real-Time PCR de Bio Rad (CFX 96) et la sonde doublement marquée d'un rapporteur et d'un absorbeur d'énergie, émettait une fluorescence après chaque cycle. Cette fluorescence était directement proportionnelle au nombre de copies du gène amplifié.

Les réactions d'amplification se sont faites comme suit : UDG 50 °C pendant 2 min (1 cycle), dénaturation initiale 95°C pendant 5 min (1 cycle), dénaturation 95°C pendant 30 secondes et hybridation-élongation 60°C pendant 1 minute (44 cycles).

Le seuil de positivité était fixé à la valeur des Ct inférieure ou égale à 35 cycles. Nous avons considéré comme infestation légère un Ct compris entre 30 et 35, et comme infestation massive un Ct inférieur ou égal à 30. Les contrôles négatifs contenaient uniquement de l'eau PCR.

#### **4. Saisie et analyse des données**

Les données sociodémographiques, cliniques, et biologiques des patients ont été obtenues à partir des questionnaires de l'enquête de prévalence. Les données recueillies ont été saisies sur Excel et analysées par le logiciel Epi info7.2.0. Les variables ont été décrites en termes d'effectif et de pourcentage.

#### **5. Aspects éthiques**

L'enquête de prévalence avait reçu un avis éthique et réglementaire du Comité National d'Ethique et de Recherche en Santé.

## **RESULTATS**

## I. Données sociodémographiques

Au total, nous avons inclus dans cette étude 185 patients provenant du Sénégal et du Mali. Le Mali comptait 94 patients répartis dans 5 villages alors que les 91 patients provenaient de 11 localités du Sénégal comme présenté dans le tableau I.

**Tableau I:** Répartition des patients selon le pays

<b>PAYS</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Mali</b>	94	50.81%
<b>Sénégal</b>	91	49.19%
<b>Total</b>	185	100.00%

### 1. Répartition des cas en fonction de l'âge et du sexe :

- **Age :**

Au Mali la moyenne d'âge était de 11.8 ans avec des extrêmes de 10 et 14 ans.

Au Sénégal la moyenne d'âge était de 11.8 ans avec les mêmes extrêmes qu'au Mali.

- **Sexe :**

Au Mali pour un total de 96 patients, 65 individus soit 69.15% était de sexe masculin. Au Sénégal nous avons 53 individus de sexe féminin et 64 de sexe masculin.

La répartition des cas en fonction du sexe est présentée dans le tableau II.

**Tableau II:** Répartition des cas en fonction du sexe

<b>Pays</b>	<b>F</b>	<b>M</b>	<b>Total</b>
<b>Mali</b>	29 (30.85%)	65 (69.15%)	94 (100%)
<b>Sénégal</b>	41 (45.05%)	50 (54.95%)	91 (100%)
<b>Total</b>	70	115	185

## **2. Répartition des cas en fonction des villages :**

Notre étude portait sur 5 villages du Mali, les populations étaient réparties comme suit : Dianguirdé (6 patients), Diema (11 patients), Dingui Raga Logo (43 patients), Sitokoto (29 patients) et Torodo (5 patients) (Tableau III).

**Tableau III:** Répartition de la population selon les villages au Mali

<b>VILLAGE</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Dianguirdé</b>	6	6.38%
<b>Diema</b>	11	11.70%
<b>Dingui Raga Logo</b>	43	45.74%
<b>Sitokoto</b>	29	30.85%
<b>Torodo</b>	5	5.32%
<b>Total</b>	94	100.00%

Au Sénégal nous avons 11 villages. La répartition de la population selon les localités est présentée dans le tableau IV.



**Tableau IV:** Répartition de la population selon les localités au Sénégal

<b>VILLAGE</b>	<b>Fréquence</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Diamel</b>	10	10.99%
<b>Kahéne</b>	1	1.10%
<b>Kobilo</b>	24	26.37%
<b>Koumpentoume</b>	2	2.20%
<b>Méréto</b>	3	3.30%
<b>Ndiaffane Sorokoume</b>	12	13.19%
<b>Nguidjilone</b>	10	10.99%
<b>Oréfondé</b>	2	2.20%
<b>Payar</b>	4	4.40%
<b>Sylla Ndiongto</b>	14	15.38%
<b>Woudourou</b>	9	9.89%
<b>Total</b>	91	100.00%

Dans la majorité des villages de notre étude il y avait plus de garçons que de filles. Au Mali c'est uniquement dans la localité de Torodo où on avait plus d'individu de sexe féminin (60%) que masculin (40%). Les résultats sont présentés dans le tableau V.

**Tableau V: Répartition du sexe en fonction du village au Mali**

<b>Villages</b>	<b>Masculin</b>	<b>Féminin</b>	<b>Pourcentage</b>
<b>Dingui Rago</b>	33 (76.74%)	10 (23.26%)	43 (100%)
<b>Logo</b>			
<b>Sitokoto</b>	17 (58.62%)	12 (41.38%)	29 (100%)
<b>Dianguirdé</b>	6 (100%)	0 (0%)	6 (100%)
<b>Diema</b>	7 (63.64%)	4 (36.36%)	11 (100%)
<b>Torodo</b>	2 (40%)	3 (60%)	5 (100%)

Au Sénégal dans la majorité des villages il y avait plus d'individu de sexe masculin que de sexe féminin. C'est dans les villages de Payar et de Ndiaffane Sorokoume où on avait plus de filles que de garçons (tableau VI).

**Tableau VI: Répartition du sexe par village au Sénégal**

<b>Village</b>	<b>Masculin</b>	<b>Féminin</b>	<b>Total</b>
<b>Diamel</b>	8 (80%)	2 (20%)	10 (100%)
<b>Kahéne</b>	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)
<b>Kobilo</b>	13 (54.17%)	11 (45.83%)	24 (100%)
<b>Koumpentoum3</b>	2 (100%)	0 (0%)	2 (100%)
<b>Méréto</b>	2 (66.67%)	1 (33.33%)	3 (100%)
<b>Ndiaffane Sorokoume</b>	4 (33.33%)	8 (66.67%)	12 (100%)
<b>Nguidjilone</b>	5 (50%)	5 (50%)	10 (100%)
<b>Oréfondé</b>	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)
<b>Payar</b>	1 (25%)	3 (75%)	4 (100%)
<b>Sylla Ndongto</b>	9 (64.29%)	5 (35.71%)	14 (100%)
<b>Woudourou</b>	4 (44.45%)	5 (55.55%)	9 (100%)

## II. Description des résultats parasitologiques et moléculaires des cas diagnostiqués :

### 1. Aspect macroscopique des urines

Au Mali 62 patients (65.96%) présentaient des urines troubles, 28 patients avaient des urines claires et 4 patients avaient des urines hématuriques. Ces résultats sont présentés dans le tableau VII.

**Tableau VII:** Aspect macroscopique des urines au Mali

Aspect macroscopique des urines	Fréquence	Pourcentage
Clair	28	29.79%
Hématurique	4	4.26%
Trouble	62	65.96%
Total	94	100.00%

Au Sénégal 78 patients avaient des urines troubles, 11 patients présentaient des urines claires et 2 patients des urines hématuriques. Les résultats sont présentés dans le tableau VIII.

**Tableau VIII:** Aspect macroscopique des urines au Sénégal

Aspect macroscopique des urines	Fréquence	Pourcentage
Clair	11	12.09%
Hématurique	2	2.20%
Trouble	78	85.71%
Total	91	100.00%

## 2. Description de l'hématurie microscopique par les bandelettes urinaires :

Au Mali 16 patients présentaient des bandelettes négatives. Sur les 78 patients avec une bandelette urinaire positive, les 28 présentaient ++, 27 avaient +++ et les 23 restants présentaient une croix aux bandelettes urinaires (tableau IX).

**Tableau IX:** Aspect microscopique des urines au Mali

Hémastix	Fréquence	Pourcentage
+	23	24.47%
++	28	29.79%
+++	27	28.72%
Négatif	16	17.02%
Total	94	100.00%

Au Sénégal 17 patients avaient des bandelettes urinaires négatives. Les patients présentant une bandelette urinaire positive étaient au nombre 74, dont 37 avaient +++, 13 patients avaient ++, 14 patients avaient + et 10 présentaient des traces. Ces résultats sont présentés dans le tableau X.

**Tableau X:** Aspect microscopique des urines au Sénégal

Hémastix	Fréquence	Pourcentage
+	14	15.38%
++	13	14.29%
+++	37	40.66%
Traces	10	10.99%
Négatif	17	18.68%
Total	91	100%

### 3. Description de la charge parasitaire par la microscopie :

Au Mali, nous avons 44 patients avec une densité parasitaire inférieure ou égale à 49 œufs par 10 ml. Les 50 autres avaient une densité supérieure à 49 œufs par 10 ml (tableau IX).

Au Sénégal, nous avons 66 patients avec une densité parasitaire inférieure ou égale à 49 œufs par 10 ml et 25 patients avec une densité supérieure à 49 œufs par 10 ml (tableau XI).

**Tableau XI : Densité parasitaire**

	$\leq 49$	$\geq 50$
Sénégal	66 (72.53%)	25 (27.47%)
Mali	44 (46.81%)	50 (53.19%)

Au Mali dans la population présentant une forte infestation, 7 individus avaient une densité supérieure ou égale à 50 et inférieure à 150 œufs par 10 ml. Vingt individus avaient une densité parasitaire supérieure ou égale à 150 et inférieure à 300 œufs par 10 ml. Les individus avec une densité parasitaire supérieure ou égale à 300 œufs par 10 ml étaient au nombre de 13 (tableau XII).

**Tableau XII: Densité parasitaire au Mali**

Densité parasitaire	$\leq 49$	$\geq 50$ et $< 150$	$\geq 150$ et $< 300$	$\geq 300$
n	44	17	20	13

Au Sénégal dans la population présentant une forte infestation, 14 individus avaient une densité supérieure ou égale à 50 et inférieure à 150 œufs par 10 ml. Les individus avec une densité parasitaire supérieure ou égale à 150 et inférieure à 300 œufs par 10 ml étaient au nombre de 8. Les individus avec une densité parasitaire supérieure ou égale à 300 œufs par 10 ml était au nombre de 3 (tableau XIII).

**Tableau XIII: Densité parasitaire au Sénégal**

Densité parasitaire	≤ 49	≥50 et <150	≥150 et < 300	≥ 300
n	66	14	8	3

#### 4. Description de la charge parasitaire par la PCR en temps réel :

##### Valeur du CT au RT-PCR

Au Mali 77 patients avaient un cycle threshold (CT) inférieur ou égal à 30 et 17 patients avaient un CT supérieur à 30 (tableau XIV).

**Tableau XIV: Résultats RT-PCR Mali**

CT	≤ 30	> 30
n (%)	77 (82.9%)	17 (18.1%)

Au Sénégal 63 patients (69.2%) avaient un CT inférieur ou égale à 30 et 28 patients avaient un CT supérieur à 30 (tableau XV).

**Tableau XV: Résultats RT-PCR Sénégal**

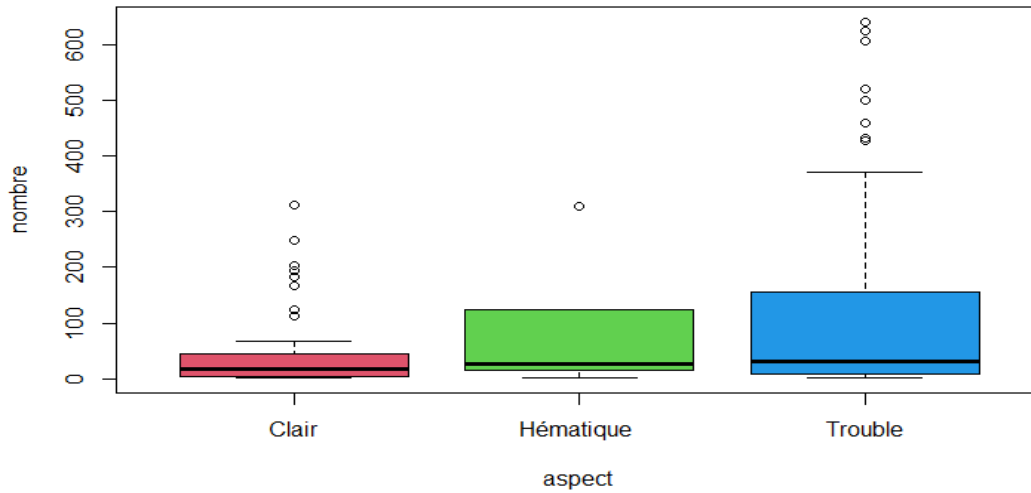
CT	$\leq 30$	$> 30$
n (%)	63 (69.2%)	28 30.8%)

### III. Comparaison des résultats parasitologiques et moléculaires :

#### 1. Corrélation de la charge parasitaire avec l'aspect macroscopique des urines

Les données de l'aspect macroscopique des urines ont été corrélées à la densité parasitaire (figure 6). Ainsi pour chaque item à savoir clair, trouble et hématique la moyenne de la densité parasitaire et les extrêmes de la charge parasitaire avaient été déterminés. Le Test de Kruskal-Wallis avait montré qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative avec  $p\text{-value} = 0.13$  ( $>0.05$ ).

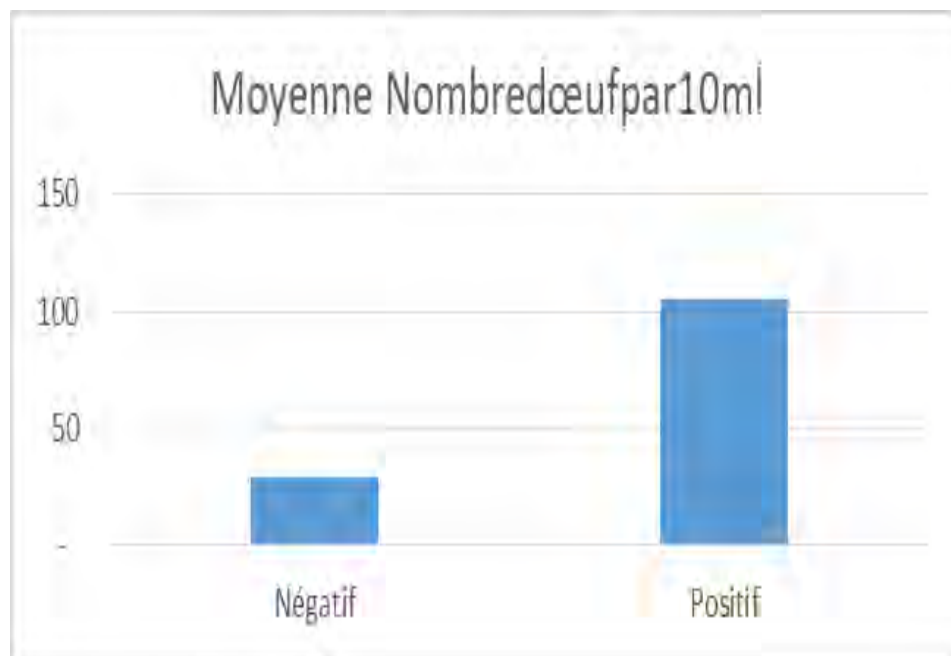
Kruskal-Wallis chi-squared = 4.0807, df = 2, p-value = 0.13



**Figure 6:** Aspect macroscopique des urines en fonction de la densité parasitaire

## 2. Corrélation de la charge parasitaire à l'hématurie microscopique

Les patients avec une bandelette hémostix négative avaient une densité parasitaire moyenne de 30 œufs/10 ml contre 105 œufs/10 ml pour ceux avec une bandelette urinaire positive (figure 7).



**Figure 7:** Moyenne de la densité parasitaire en fonction de l'hématurie microscopique

En corrélant l'hématurie microscopique avec la densité parasitaire nous avons  $W = 33769$ ,  $p\text{-value} < 2.2e-16$  au Wilcoxon rank sum test with continuity correction.

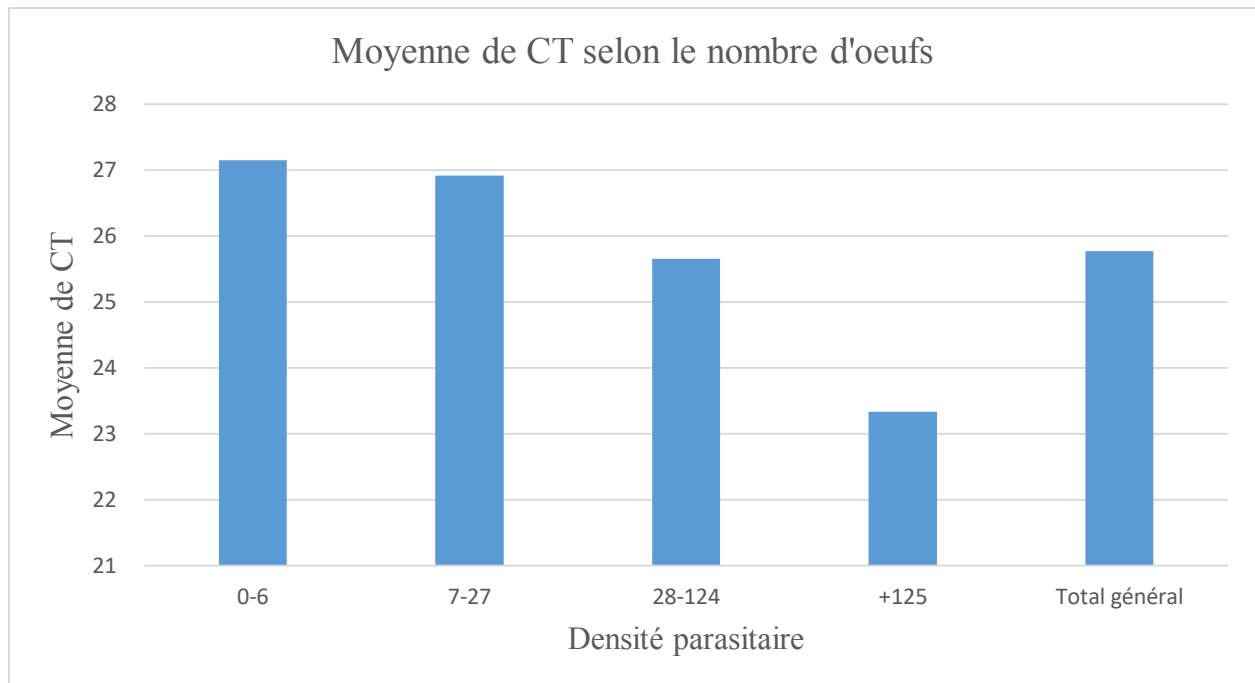
## 3. Corrélation de la charge parasitaire au CT

Lorsque la densité parasitaire était inférieure ou égale à 6 œufs/10 ml le CT était en moyenne de 27,2. Entre 7 et 27 œufs/10 ml la moyenne du CT était de 26,9. Pour une densité parasitaire de 28 à 124 œufs/10 ml la moyenne de CT était de 25,7.



Quand la densité parasitaire était supérieure ou égale à 125 œufs/10 ml la moyenne de CT était de 23,2. La figure 8 représente la moyenne de CT en fonction des quartiles.

En corrélant la charge parasitaire au CT nous avons eu un rho (coefficient de corrélation) de -0.27 avec un p-value de 0.000354 ( $<0.005$ ).



**Figure 8:** Moyenne de CT en fonction des quartiles de la densité parasitaire

## **DISCUSSION**

Problème de Santé publique, la bilharziose est une maladie tropicale négligée. Les enfants d'âge scolaire constituent la population la plus vulnérable. Malgré l'administration en masse du praziquantel, utilisation des molluscicides et les campagnes de sensibilisation, 80% des cas de bilharziose se trouvent en Afrique subsaharienne. Elle y est présente avec des zones de forte endémicité. Ainsi notre étude s'était portée sur les données collectées dans une enquête de prévalence de la bilharziose financée par l'OMVS au Sénégal et au Mali dans la période allant du 15 Mars au 15 Avril 2019. Au total nous avons eu 185 patients provenant du Mali et du Sénégal. Cependant le nombre de cas colligés dans notre étude a été faible et a pu nous poser des problèmes de validation de tests statistiques de comparaison. La faiblesse de notre échantillon était due en partie du fait que pour certains échantillons les données sociodémographiques n'étaient pas disponibles.

Dans notre étude tant au Mali qu'au Sénégal la moyenne d'âge était de 11.8 ans avec une médiane de 12 ans. Ce qui corroborait les résultats des auteurs Aryeetey Y.A. et al [7] au Ghana. Les auteurs Senghor B. et al [44] avaient trouvé une moyenne d'âge de 10.4 ans au Sénégal. Les auteurs Seck M. C. et al [43] du Sénégal et Ouldabdallahi M. et al en Mauritanie [39] avaient la même médiane d'âge de 10 ans. Ce qui était légèrement inférieure à notre médiane d'âge. Par ailleurs les auteurs Melchers N.V.S V. et al [31] au Kenya et Wami W. M. et al [51] au Zimbabwe avaient une médiane d'âge respectivement de 9.6 ans et 6.9 ans. Une prévalence plus élevée chez les enfants de 10-12ans et du fait que, nos extrêmes d'âges étaient entre 10 et 14 ans, pourraient expliquer nos résultats.

Une prédominance du sexe masculin était retrouvée dans notre étude avec 69.15% au Mali et 54.95% au Sénégal. Cette prédominance a été retrouvée par les auteurs Dieng N M. et al au Sénégal. Cependant les auteurs Senghor B. et al [45, 46], Seck M. C. et al [43] du Sénégal et Bayang M. et al [8] avaient une prédominance féminine dans leurs études. La prédominance retrouvée dans notre étude pourrait

être expliquée du fait que les garçons de par les jeux et bains dans les points d'eau seraient plus exposés que les filles.

Nos échantillons provenaient de 5 villages du Mali et de 11 villages du Sénégal. Au Mali les villages de Dingui Raga Logo et Sitokoto représentaient à eux deux 76.59%. Au Sénégal la répartition était plutôt homogène.

Selon l'OMS, l'infestation est légère quand la densité parasitaire est inférieure ou égale à 49 œufs par 10ml. Elle est sévère quand la charge parasitaire est supérieure ou égale à 50 œufs par 10 ml. Dans notre étude, nous avons retrouvé une nette prédominance d'une infestation légère au Mali à 72.53% et une légère prédominance d'une infestation sévère au Sénégal à 53.19%. La prédominance d'une infestation sévère a été retrouvée par les auteurs Dieng N M. [18] et Senghor B. et al [45] au Sénégal. Les auteurs Seck M. C. et al [43] avaient retrouvé une prédominance d'une infestation légère.

L'aspect macroscopique des urines dans notre étude était classé en trois items. A savoir clair, trouble ou hématurique. L'aspect trouble des urines était prédominant au Mali comme au Sénégal avec respectivement 65.96% et 85.71%. Cet aspect macroscopique a été corrélé avec la densité parasitaire (fig. 6). Ce qui avait permis de trouver un p-value de 0,13. Ceci montre qu'il n'y avait pas de corrélation statistiquement significative dans notre étude.

Pour objectiver l'hématurie microscopique les bandelettes urinaires (hémastix) ont été utilisées. Nous avons eu deux groupes de résultats, positif et négatif. Le groupe positif regroupé les patients ayant soit des traces ou quel que soit le nombre de croix (+, ++, +++). Ainsi nous avons eu presque les mêmes proportions au Mali qu'au Sénégal avec respectivement 82.98% et 81.32%. Dans les échantillons n'ayant pas d'hématurie microscopique la moyenne de la densité parasitaire était de 30 œufs par 10ml. Cette moyenne était de 105 œufs par 10ml pour les échantillons présentant une hématurie microscopique (fig. 7). Les tests avaient

montré une association statistiquement significative entre hématurie microscopique et charge parasitaire avec un p-value inférieur à  $2.2 \cdot 10^{-16}$ . Ces résultats sont corroborés par les auteurs Traoré L. K. et al [48] Sellin B. et al [44]. Ceci montre que les bandelettes urinaires pour la détection d'hématurie microscopique peuvent être utilisées dans la mise en évidence de foyer de haute endémicité.

La PCR en temps réel a longtemps montré sa place primordiale dans le diagnostic de la bilharziose urinaire. La littérature est fournie d'article allant dans ce sens. Dans notre étude, nous avons corrélé la microscopie à l'outil moléculaire. A la PCR en temps réel, 82.9% des échantillons du Mali avaient une valeur CT inférieure ou égale à 30 contre 69.2% au Sénégal. Ensuite, nous avons corrélé la charge parasitaire retrouvée à la microscopie et la valeur du CT obtenue avec l'outil moléculaire. La densité parasitaire était regroupée en quartile. Ainsi nous avons constaté que pour chaque quartile on notait une baisse de la valeur du CT (fig. 8). En plus de cela les tests statistiques ont montré une corrélation négative (coefficient corrélation= -0.27). Fort de tout cela nous pouvons affirmer que l'outil moléculaire peut être utilisé dans la surveillance des zones de faible endémicité. Aussi qu'avec la densité parasitaire on pourrait prédire la valeur du CT à quelque intervalle près ce qui est gage d'uniformité des résultats.

## **CONCLUSION**

Deuxième endémie parasitaire, la bilharziose est une des maladies tropicales négligées (MTN) les plus fréquentes. En 2018, elle touchait 230 millions de personnes à travers le monde avec une mortalité estimée à 150.000 par an [52]. La majorité des cas, soit 80 % se trouve en Afrique subsaharienne avec des zones de forte endémicité [52]. Les enfants d'âge scolaire constituent les populations les plus à risque du fait de leur fréquentation des points d'eau.

Malgré la mise en œuvre des recommandations de l'OMS depuis plusieurs décennies, il existe des localités avec des taux de ré-infestation élevés. Une méconnaissance des souches qui circulent, avec l'existence potentielle d'hybrides entre les souches humaines et animales. D'où la nécessité de la mise en place d'outils de diagnostic performants dans la détection et l'identification des souches de *Schistosoma haematobium* et hybrides avec *Schistosoma bovis*. Dans ce domaine la biologie moléculaire a montré sa supériorité par rapport à la microscopie pour la surveillance thérapeutique et la détection des cas dans les zones de faible prévalence.

Ainsi l'objectif de ce travail était d'évaluer le niveau de la charge parasitaire dans la bilharziose uro-génitale par les outils microscopiques et de biologie moléculaire. Cependant le nombre de cas colligés dans notre étude a été faible et a pu nous poser des problèmes de validation de tests statistiques de comparaison. La faiblesse de notre échantillon était due en partie du fait que pour certains échantillons les données sociodémographiques n'étaient pas disponibles.

Au total, nous avons eu 185 patients provenant du Mali et du Sénégal. Dans notre étude tant au Mali qu'au Sénégal, la moyenne d'âge était de 11.8 ans avec une médiane de 12 ans. La prévalence étant plus élevée chez les enfants de 10-12ans et du fait que nos extrêmes d'âges étaient entre 10 et 14 ans pourraient expliquer nos résultats. Une prédominance du sexe masculin était retrouvée dans notre étude avec 69.15% au Mali et 54.95% au Sénégal.

La prédominance retrouvée dans notre étude pourrait être expliquée du fait que les garçons de par les jeux et baignades dans les points d'eau seraient plus exposés que les filles. Nos échantillons provenaient de 5 villages du Mali et de 11 villages du Sénégal. Au Mali les villages de Dingui Raga Logo et Sitokoto représentaient à eux deux 76.59%. Au Sénégal, la répartition était plutôt homogène.

Selon la classification de l'OMS de l'infestation au cours de la bilharziose, nous avons retrouvé une nette prédominance d'une infestation légère au Mali à 72.53% et une légère prédominance d'une infestation sévère au Sénégal à 53.19%.

L'aspect trouble des urines était prédominant au Mali comme au Sénégal avec respectivement 65.96% et 85.71%. Cet aspect macroscopique a été corrélé avec la densité parasitaire (fig. 6). Ce qui avait permis de trouver un p-value de 0,13. Ceci montre qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans notre étude.

L'hématurie microscopique a été objectivée par les bandelettes urinaires (hémastix). Ainsi nous avons eu presque les mêmes proportions au Mali comme au Sénégal avec respectivement 82.98% et 81.32%. Dans les échantillons n'ayant pas d'hématurie microscopique la moyenne de la densité parasitaire était de 30 œufs par 10ml. Cette moyenne était de 105 œufs par 10ml pour les échantillons présentant une hématurie microscopique (fig. 7). Les tests avaient montré une association statistiquement significative entre hématurie microscopique et charge parasitaire avec un p-value inférieur à  $2.2 \cdot 10^{-16}$ . Ceci montre que les bandelettes urinaires pour la détection d'hématurie microscopique peuvent être utilisées dans la mise en évidence de foyer de haute endémicité.

Dans notre étude nous avons corréler la microscopie à l'outil moléculaire. A la PCR en temps réel, 82.9% des échantillons du Mali avaient une valeur CT inférieure ou égale à 30 contre 69.2% au Sénégal. Ensuite nous avons corréler la charge parasitaire retrouvée à la microscopie et la valeur du CT obtenue avec



l'outil moléculaire. La densité parasitaire était regroupée en quartile. Ainsi nous avons constaté que pour chaque quartile on notait une baisse de la valeur du CT (fig. 8). En plus de cela les tests statistiques ont montré une corrélation négative (coefficient corrélation= -0.27). Fort de tout cela, nous pouvons affirmer que l'outil moléculaire peut être utilisé dans la surveillance des zones de faible endémicité. Aussi qu'avec la densité parasitaire on pourrait prédire la valeur du CT à quelque intervalle près ce qui est gage d'uniformité des résultats.

### **Perspectives :**

Nous prévoyons en perspective de poursuivre avec l'étude de la cinétique de décroissance parasitaire en PCR temps réel et de la recherche des hybrides par séquençage à Marseille.

Au terme de ce travail nous formulons **les recommandations** ci-dessus :

Sensibiliser davantage les populations sur la transmission de la schistosomiase.

Vulgariser les bandelettes urinaires pour la détection de l'hématurie microscopique.

Utiliser la biologie moléculaire dans la surveillance des zones de faible endémicité.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. **Agence nationale de la statistique et de la démographie.** Situation économique et sociale régionale 2016, service régional de la statistique et de la démographie de Matam, Mars 2019.
2. **Agence nationale de la statistique et de la démographie.** Situation économique et sociale régionale 2016, service régional de la statistique et de la démographie de Tambacounda, Septembre 2019.
3. **AL-Sii Erbi NY M, Osman A, Iiancock K, Deeld ER A. & Tsang V.** Application of immunodiagnostic assays: detection of antibodies and circulating antigens in human schistosomiasis and correlation with clinical findings. *Am J Med Hyg*, 1999; 60.6, P 960-966.
4. **ANOFEL 2014 (Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie).**
5. **ANOFEL 2016.**
6. **ANOFEL Parasitologie et mycologie médicales** Guides des analyses et pratiques diagnostiques 2018; Elsevier Masson 305-309.
7. **Aryeetey YA, Essien-Baidoo S, Larbi IA, Ahmed K, Amoah AS, Obeng BB, et al.** Diagnostic moléculaire des infections à *Schistosoma* dans des échantillons d'urine d'écoliers au Ghana. *Am J Trop Med Hyg*. 2013 Jun; 88(6):1028-31.
8. **Bagayan M, Zongo D, Savadogo B, Oueda A, Sorgho H, Kabre B G, Poda J N.** Prévalence de la schistosomiase urinaire en milieu scolaire dans un milieu périurbain de Ouagadougou : cas du quartier Yamtenga (Burkina Faso) 2014, Science et technique, Sciences de la santé.
9. **Bonnard P, Kalach N, Cadranel JF, Remoué F, Riveau G, Capron A.** *Gastroentérologie clinique & biologique* 2000; 24: 409-419 © Masson, Paris.

10. **Bronstein JA, Caumes JL, Richecœur M, Lipovac AS, Klotz F.** Complications digestives et hépatiques des schistosomoses. *Hépatogastro* 2003; 10 :425-34.
11. **Catteau X, Fakhri A, Albert V, Doukoure B, Noël J C.** La Schistosomiase génitale chez les femmes européennes. *ISRN Obstet Gynecol* 2011; 2011: 242140.
12. **Chevalier B ; Martet G ; Nicolas X ; Klotz F.** Schistosomoses. *Encyclopédie médico chirurgicale* 8-513-A-10).
13. **Chippau JP.** La lutte contre les schistosomoses en Afrique de l'Ouest. Paris : IRD ,2000 ,225-236.
14. **Collège des enseignants chercheurs de Parasitologie Mycologie africains.** Maladies parasitaires endémiques en Afrique Tome 1, 2021; Ed d'avenir 430-490.
15. **Collège des enseignants chercheurs de Parasitologie Mycologie africains.** Diagnostic biologique des parasitoses et mycoses Animaux et champignons venimeux et vénéreux Tome 3 2021; Ed d'avenir 23-24 84-95.
16. **Colley DG, Bustinduy AL, Secor WE & King CH.** Human schistosomiasis. *Lancet London England* 2014; 383 (9936): 2253-2264.
17. **Collot S, Alain S, Denis F & Ranger-Rogez S.** Quantification par PCR en temps réel, technologie TaqMan et applications en virologie. *Virologie* 2001; 5(6): 439-448.
18. **Dieng N M.** Epidémiologie moléculaire de la bilharziose urogénitale en milieu communautaire à Niakhar, au Sénégal en 2018 Mémoire Biologie et contrôle des parasites. Dakar Cheikh Anta Diop 2019.
19. **Dieng. I.** Mécanismes de la compatibilité du schistosome avec son hôte définitif [Thèse de docteur de troisième cycle de biologie animale]. Dakar : Université Cheikh Anta Diop; 1999.

20. **ePILLY trop.** Maladies infectieuses tropicales Editions Alinéa Plus 2016.
21. **Fall K.** Evaluation de la prévalence de la bilharziose uro génital dans les districts sanitaires de Tambacounda Bakel et Goudiry (SENEGAL). Résultats d'enquêtes effectués en 2003,2008 et 2010) [thèse en médecine].Dakar: Université Cheikh Anta Diop; 2010.
22. **Gandasegui J, Fernández-Soto P, Dacal E, Rodriguez E, Saugar JM, Yepes E, et al.** Field and laboratory comparative evaluation of a LAMP assay for the diagnosis of urogenital schistosomiasis in Cubal, Central Angola. Trop Med Int Health 2018 Sep; 23(9):992-1001.
23. **Gentilini M, Dufflo B.** Les maladies parasitaires : Les schistosomes. MEDECINE TROPICALE AUPELF 2000.
24. **Gentilini M., Cames E., Danis M., Mouchet J., Duflo B., Lagardère B, et al.** Médecine tropicale. 5° édition Médecine-Sciences, Paris : Flammarion, 1993, 928 p.
25. **Golvan Y.** Eléments de parasitologie médicale. 4eme édition, Médecine-Sciences. Paris : Flammarion, 1983, 561 p.
26. **Guide à l'intention des responsables des programmes de lutte.** Lutte contre les helminthiases chez les enfants d'âge scolaire (Deuxième édition).
27. **Heid CA, Stevens J, Livak KJ & Williams PM.** Real time quantitative PCR. Genome Research 1996; 6(10): 986-994.
28. **Institut de veille sanitaire (invs.santepubliquefrance.fr/)** Bilharziose urinaire à *schistosoma haematobium*.
29. **Jeai Esbilh-Sen.** Evaluer les stratégies de lutte contre la bilharziose au Sénégal (Sénégal 2018 2020).
30. **Jordan P, Webbe G, Sturrock F.** Schistosomiase humaine. Wallingford: CAB international; 1993.

31. **LY B, Yaro A S, Sodio B et Sacko M.** Persistance de la schistosomiase urinaire en zones endémiques soumises aux traitements de masse répétés au Mali. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 13(1): 369-381, Février 2019.
32. **Melchers N-VS-V, Van Dam GJ, Shaproski D, Kahama AI, Brien E-AT,, Vennervald BJ, et al.** Performances diagnostiques de la PCR en temps réel de *Schistosoma* dans des échantillons d'urine d'enfants kényans infectés par *Schistosoma haematobium* : variation au jour le jour et suivi après un traitement au Praziquantel .*PLoS Negl Trop Dis.* 2014 avril; 8 (4): e2807.
33. **Moulinier C.** Parasitologie et mycologie médicales Eléments de morphologie et de biologie 2003; Ed Médicales internationales 342-373.
34. **Nakoulma R J F.** Evolution de la schistosomiase dans le district sanitaire de Tougan 1999 à 2003(mémoire) Ouagadougou : Ecole nationale de Santé publique; 2004.
35. **Ndir O.** Situation des schistosomoses au Sénégal.
36. **Nozais JP, Datry A, Danis M.** Traité de parasitologie médicale 1996; Ed Pradel 729-777.
37. **OMS.** Manuelle des techniques de base pour le laboratoire médical. Geneve 1982.
38. **Organisation Mondiale de la Santé.** Rapport de la consultation informelle de l'O.M.S. sur la lutte contre les schistosomiasés. Genève du 2 au 4 Décembre 1998.
39. **Ouldabdallahi M, Ouldbezeid M, Diop C, Dem E, Lassana K.** Épidémiologie des bilharzioses humaines en Mauritanie. L'exemple de la rive droite du fleuve Sénégal. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* (2010) 103:317-322.
40. **Pearson RD.** Schistosomiase (bilharziose) .University of Virginia School of Medicine.

41. **SAED-Centre de Ndiaye, Saint louis, Sénégal.** La bilharziose (schistosomiasis) associée à la riziculture irriguée rédigé par le projet de gestion de l'eau, bulletin technique numéro 4 ,1991.
42. **Seck M C, Diongue K, Ndiaye M, Badiane A S, Diallo M A, Ndiaye D.** Prevalence and intensity of urogenital and intestinal schistosomiasis among primary school children in rural districts of Senegal. *J. Parasitol. Vector Biol* July-December 2019 Vol. 11(2), pp. 19-25.
43. **Seck. MC.** Prévalence des bilharzioses au Sénégal : résultats d'enquêtes menées dans les sites sentinelles de Thiès Diourbel Fatick Kaffrine Kolda et Ziguinchor en 2012[mémoire biologie et contrôle des parasites]. Dakar : Université Cheikh Anta Diop;2014 049.
44. **Sellin B, Simonkovich E, Ovazza L, Sellin E, Desfontaine M, Rey J L.** Valeur de l'examen macroscopique des urines et des bandelettes réactives pour la détection de l'hématurie et de la protéinurie dans le diagnostic de masse de la schistosomiase urinaire avant et après. *Medecine tropicale* Septembre-Octobre 1982; Volume 42 - No 5.
45. **Senghor B, Diallo A, Sylla SN, Doucouré S, Ndiath MO, Gaayeb L, et al.** Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar,region of Fatick, Senegal. *Parasites & Vectors* 2014; 7(1), pp. 5.
46. **Senghor B, Diaw OT, Doucoure S, Seye M, Diallo A, Talla I, et al.** Impact of Annual Praziquantel Treatment on Urogenital Schistosomiasis in a Seasonal Transmission Focus in Central Senegal. *PLoS Negl Trop Dis* 2016 Mar 25; 10(3).
47. **Service national des grandes endémies.** Diagnostic biologique des bilharzioses. Manuel destiné aux techniciens de laboratoire 1999.

48. **Traore L K, Ouedraogo L H, Pietra V, Nacoulma I, Nebie B, Pafadnam F.** Prévalence de l'infection a *schistosoma haematobium* et relations bilharziose hématurie dans deux villages du Burkina Faso. Médecine d'Afrique Noire : 1990, 37 (3).
49. **Traoré M.** Importance des aménagements hydrauliques dans la transmission des schistosomoses Paris : IRD, 2000, p. 23-29 (Colloques et Séminaires).
50. **Van der Werf M J, De Vlas S J.** Morbidity and Infection with Schistosomes or Soil-transmitted Helminths. Erasmus University; Rotterdam: 2001. pp. 1–103.
51. **Wami W M, Nausch N, Midzi N, Gwisai R, Mduluza T, Woolhouse M E J, Mutapi F.** Comparative Assessment of Health Benefits of Praziquantel Treatment of Urogenital Schistosomiasis in Preschool and Primary School-Aged Children. BioMed Research International. 2016, 11.
52. **WHO** Weekly epidemiological record, no 50, 13 december 2019.
53. **WHO.** Lutte contre les mollusques et prévention de la bilharziose (WHO mono 50).
54. **WHO.** Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. Geneva: World Health Organization 2002.
55. **Zein Eddine R.** Epidémiologie moléculaire, structure génétique et phylogénie dans trois pays africains. Interactions avec le genre *Schistosoma*. [Thèse en pharmacie].France : Université de Limoges ; 2014.

### **Webographie**

56. [www.instat-mali.org/fr](http://www.instat-mali.org/fr)



## **ANNEXES**

## Annexe 2 : Pot d'urine



## Annexe 3 : Matériels nécessaires pour la PCR en temps réel



**Plaque PCR**



**Tube d'eppendorf**



**Embouts**



**Pipettes 10, 100, 1000ul**



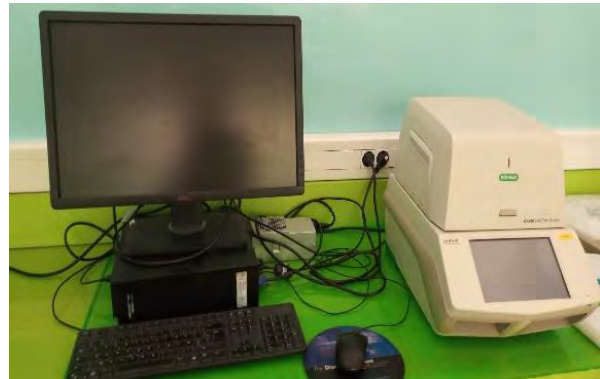
**Vortex**



**Centrifugeuse**



**Hotte à flux laminaire**



**CFX 96**

## **Etude de la charge parasitaire par microscopie et biologie moléculaire dans la bilharziose urogénitale.**

**Contexte :** Malgré la mise en œuvre des recommandations de l'OMS depuis plusieurs décennies, la bilharziose reste un problème de santé publique. Ainsi la mise en place d'outils de diagnostic performants s'impose. Parmi ces outils, la biologie moléculaire a montré sa supériorité par rapport à la microscopie dans la détection et l'identification des espèces du groupe *Schistosoma haematobium*. L'objectif de notre étude était d'évaluer le niveau de la charge parasitaire dans la bilharziose uro-génitale par les outils microscopiques et par la biologie moléculaire.

**Méthodologie :** Notre étude s'est réalisée dans le cadre d'une enquête de prévalence de la bilharziose financée par l'OMVS au Sénégal et au Mali dans la période allant du 15 Mars au 15 Avril 2019. Les échantillons collectés au Sénégal et au Mali ont été examinés au microscope par la technique de filtration urinaire et par la PCR en temps réel ciblant le gène Dra 1. La charge parasitaire obtenue au microscope a été comparée au cycle seuil (Cycle threshold=CT) observé à la PCR.

**Résultats :** Au total, nous avons inclus dans cette étude 185 patients. Le Mali comptait 94 patients et le Sénégal 91 patients. Au Mali comme au Sénégal la moyenne d'âge était de 11.8 ans avec des extrêmes de 10 et 14 ans. Il y avait une association statistiquement significative entre l'hématurie microscopique et la charge parasitaire ( $p\text{-value} < 2.2 \cdot 10^{-16}$ ). La charge parasitaire retrouvée à la microscopie a été corrélée avec la valeur du CT obtenue avec l'outil moléculaire ( $p\text{-value} = 0.000354$ ).

**Conclusion :** Les résultats de cette étude montrent que l'outil moléculaire peut être utilisé dans l'estimation de la charge parasitaire chez les patients infectés par *Schistosoma haematobium*. D'autres études sont nécessaires pour évaluer son apport dans le suivi post-thérapeutique

**Mots clés :** Schistosomiase – *S.haematobium* - PCR en temps