

# DETECTION DE LA RESISTANCE AUX MEDICAMENTS COURAMMENT UTILISES DANS LE TRAITEMENT DE LA TRYPANOSOMOSE DES BOVINS ELEVES DANS LE CERCLE DE KADIOLO, AU MALI.

BOUCADER DIARRA<sup>1</sup>, MODIBO DIARRA<sup>1</sup> OUMAR DIALL<sup>2</sup>, YOUSOUF SANOGO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Cellule de Coordination de la Lutte contre les Mouches tsé-tsé et les Trypanosomoses animales, BP 9125, Bamako-Mali.

<sup>2</sup> Comité National de la Recherche Agricole Route de Koulouba Face Ex-ENA FDPU - BP E: 1911. Tél. /Fax : (223) 20 22 71 65 / 20 22 69 19. E-mail : [cnra@cnra-mali.org](mailto:cnra@cnra-mali.org). Bamako – Mali.

<sup>3</sup> Laboratoire Central Vétérinaire, Km 8, route de Koulikoro, B.P. 2295 Bamako, Tél. : (223)20 24 33 44/20 24 23 04 Fax : (223)20249809, [www.labovetmali.org](http://www.labovetmali.org)

\* Auteur correspondant

Boucader Diarra, Cellule de Coordination de la Lutte contre les Mouches tsé-tsé et les Trypanosomoses animales, BP 9125, Bamako-Mali. Email : [diarrab@gmail.com](mailto:diarrab@gmail.com)

## Résumé

De fortes mortalités des bovins dues à la trypanosomose animale sont survenues dans le cercle de Kadiolo à la fin des années 2000. Afin de lutter efficacement contre ces mortalités, une étude d'évaluation de la chimiorésistance au Chlorure d'Isométymidium et à l'Acéturate de Diminazène a été effectuée dans huit villages choisis sur la base de leurs fortes prévalences à la trypanosomose. La méthode utilisée a consisté à suivre pendant 28 jours 2 groupes d'animaux naturellement infectés et traités au premier jour de l'étude avec les deux trypanocides les plus couramment utilisés dans la zone. Des contrôles de la parasitémie ont été réalisés 14 jours et 28 jours après les traitements pour la détection d'éventuelles rechutes. Les résultats obtenus ont montré l'inefficacité de l'Isométymidium sur 32,14 p.100 des bovins porteurs de trypanosomes et l'inefficacité du Diminazène sur 24,13 p.100 des bovins porteurs de trypanosomes. Enfin les deux médicaments se sont montrés simultanément inefficaces sur 10,5 p.100 de ces bovins.

**Mots clés :** trypanosomes- chimiorésistance- isométymidium- diminazène- Kadiolo.

## Abstract

High cattle mortalities due to animal trypanosomosis occurred in the Kadiolo circle in the late 2000s. In order to effectively combat these mortalities, an evaluation study of the chemoresistance to Isometamidium and Diminazene was carried out in eight villages selected on the basis of their high prevalence of trypanosomosis. The method used consisted in following for 28 days 2 groups of naturally infected animals treated on the first day of the study with the two trypanocides most commonly used in the area. Parasitaemia tests were performed 14 days and 28 days after the treatments for the detection of possible relapses. The results obtained showed the ineffectiveness of Isometamidium on 33 p100 of cattle carrying trypanosomes and the inefficacy of Diminazene on 24 p100 of cattle carrying trypanosomes. Finally both drugs were simultaneously ineffective on 9 p100 of these cattle.

**Keywords:** trypanosomes-chemoresistance-isometamidium-diminazene-Kadiolo.

## 1. Introduction

Le projet « Gestion de la chimiorésistance dans le cadre de la lutte intégrée contre la Trypanosomose dans la zone cotonnière de l’Afrique de l’Ouest » financé par le Ministère Fédéral Allemand pour la Coopération Economique et le Développement (BMZ) et coordonné par International Livestock Research Institute (ILRI) a été créé pour effectuer des recherches sur la résistance aux trypanocides vétérinaires dans les zones cotonnières d’Afrique de l’Ouest. Après avoir confirmé la présence de trypanosomes résistants dans des élevages bovins de la province du Kéné Dougou, dans le sud-ouest du Burkina Faso et du cercle de Sikasso dans le sud-est du Mali, l’évaluation de la résistance aux trypanocides a été élargie à d’autres zones cotonnières (Diall et al. 2003, McDermott et al. 2003). C’est dans ce contexte que la présente étude a été réalisée dans le cercle de Kadiolo à l’extrême-sud du Mali pour mieux apprécier l’étendue et les facteurs d’évolution du phénomène.

Le choix du cercle de Kadiolo a également été motivé par les mortalités bovines exceptionnelles qui y ont été enregistrées en 2008 et 2009 ; ces mortalités étaient comparables à celles observées en 1983-1984 dans le cercle de Sikasso et qui avaient été attribuées à une mystérieuse pathologie dénommée « Maladie de Denderesso », du nom d’un des villages touchés. Cette pathologie s’était avérée être la trypanosomose, grâce à des enquêtes réalisées par une équipe du Laboratoire Central Vétérinaire de Bamako (LCV, 1986). Des enquêtes diagnostiques réalisées par le même laboratoire dans les villages les plus touchés du cercle de Kadiolo ont montré un taux de prévalence moyen de 18,4 p100 sur 114 prélèvements sanguins effectués sur des bovins et une prédominance de *Trypanosoma congolense* (70 p100 des infections). Un taux de prévalence aussi élevé, malgré des traitements trypanocides réguliers, laissait naturellement penser à une réduction de l’efficacité des trypanocides. Cette étude offre donc l’occasion de vérifier cette hypothèse.

## 2. Matériel et méthodes

### Brève présentation de la zone de l’étude

Couvrant une superficie de 5 357 km<sup>2</sup>, le Cercle de Kadiolo est situé dans l’extrême Sud de la république du Mali. Il est limité à l’est par la province de Léraba (Burkina Faso), à l’ouest par la préfecture de Tingréla (Côte d’Ivoire), au sud par les préfectures de M’Bengué et Niellé (Côte d’Ivoire), au nord par le Cercle de Sikasso (Mali) et au nord - ouest par le Cercle de Kolondiéba (Mali). Il est composé de 121 villages repartis entre neuf 9 communes rurales qui sont : Kadiolo, Fourou, Loulouni, Misséni, Zégoua, Diumaténé, Kaï, Nimbougou et Diou. Malgré la présence dans le cercle de 2 mines d’or (Massiogo et Syama) la principale activité économique demeure l’agriculture et l’élevage. Le cheptel est composé de 122 000 bovins, 45 000 ovins, 48 000 caprins DNPIA, 2017). Deux espèces de glossines (*Glossina palpalis gambiensis* et *G. tachinoïdes*) et trois espèces de trypanosomes (*Trypanosoma congolense*, *T. vivax* et *T. brucei*) ont été décrites dans le cercle (Bocoum et al. 2012, Bass et al. 2016).

### Choix des sites

Au total, 8 villages ont été choisis sur la base de leurs prévalences de trypanosomes élevées, observées lors des enquêtes de 2008-2009 conduites par le LCV. Il s’agit des villages de Kafono et Lofigué, dans la commune de Kadiolo, Zégoua et Fanidiama dans la commune de

Zégoua, Nafégoué et Dioumatène dans la commune de Dioumatènè, Diou dans la commune de Diou et Kambéréké dans la commune de Fourou. Tous ces sites ont été ensuite géo-référencés grâce à un GPS.

### **Détermination des densités apparentes des tsé-tsé (DAP)**

La zone étant connue pour être infestée essentiellement par les glossines riveraines, 5 pièges de types Challier-Laveissière ont été placés dans chaque site, le long des rivières, aux points où les contacts hôte/vecteur sont les plus fréquents. Les cages ont été relevées après 24 heures, les glossines dénombrées par espèce et sexe, et les densités apparentes calculées (Nbre tsé-tsé/Nbre pièges). Les données entomologiques ont été portées sur une fiche appelée "Fiche E" (annexe 1).

### **Evaluation de l'action des trypanocides : diminazène et isoméamidium**

Le test de sensibilité/résistance des trypanosomes à l'un et/ou à l'autre médicament trypanocide a été fait en 3 étapes :

#### **La détection de bovins infectés à soumettre à l'action des trypanocides**

Dans chacun des villages retenus, 50 bovins suspects de trypanosomose, selon l'opinion des propriétaires ou les observations de l'équipe d'enquête ont été choisis ; les animaux choisis ont été identifiés par marquage au feutre indélébile et grâce aux renseignements suivants : village, propriétaire, nom, robe, race, sexe et âge de l'animal ; ces données devraient permettre de retrouver les sujets qui seraient positifs, après les examens parasitologiques. Les bovins ainsi identifiés ont été saignés à la veine jugulaire, et le sang examiné, sur place, pour la présence de trypanosomes par la « technique du buffy coat » (BCT) après lecture du PCV (Murray et *al.* 1977). Les données parasitologiques obtenues ont été portées sur la "Fiche P" (annexe 2). Une goutte de « buffy coat » des cas positifs à la BCT, a été placée sur papier filtre en vue d'éventuelles et ultérieures analyses d'ADN.

#### **Les traitements trypanocides et suivi post-thérapeutique sur 28 jours**

Les positifs parasitologiques détectés au premier jour de l'enquête ( J0), ont été retrouvés et identifiés grâce aux boucles auriculaires des numéros, puis répartis, au hasard, entre deux groupes ; l'un, appelé « groupe diminazène » a été traité au Veriben® (Sanofi), à la dose de 3,5 mg/kg, de poids vif en solution à 7 p100. Il comprenait 29 animaux. Le second groupe appelé « groupe isoméamidium », composé de 28 animaux, a été traité au Trypamidium® (Merial) à la dose de 0,5 mg/kg de poids vif en solution à 1 p100. Pour l'un et l'autre groupe, le médicament trypanocide a été injecté aux sujets par voie intra musculaire profonde.

Les deux groupes ont été ensuite examinés 14 jours après le traitement (à J14) pour la détection de trypanosomes, utilisant la BCT comme à J0, complétée par un frottis et une goutte épaisse pour accroître les chances de détection de trypanosomes. Les rechutes observées dans le groupe diminazène ont été traitées au Trypamidium® et celles observées dans le groupe isoméamidium, ont été traitées au Veriben®, selon le principe de la « paire sanative ». Les mêmes examens pratiqués à J14 ont été reconduits 28 jours post-traitement (J28) pour détecter d'éventuels échecs aux traitements sanatifs (polyrésistances).

## L'analyse des données

L'analyse des données a surtout porté sur les données relatives à l'action des trypanocides et a été réalisée à l'échelle de la zone étudiée, mettant ensemble les données collectées sur les huit villages concernés. Les taux d'échecs spécifiques du diminazène et de l'isométramidium ont été évalués sur la base du nombre d'échecs observés à J14, rapporté au nombre de sujets traités et suivis, pour chacun des deux médicaments. Les taux d'échecs des traitements sanatifs (polyrésistances) ont été évalués en calculant le nombre total d'échecs à J28 des deux médicaments sur les rechutes de J14, et en le rapportant au nombre total d'infections traitées et suivies depuis J0, jusqu'à J28.

### 3. Résultats

#### Résultats entomologiques

Les densités apparentes ont varié de 0 à 15 glossines/piège/jour pour *G. palpalis* et de 0 à 3 glossines/piège/jour pour *G. technoides*. Pour les 2 espèces, les densités ont été nulles dans le village de Diou tandis qu'elles ont atteint leur maximum à Nafégué. Il faut également noter que 3 spécimens de *G. morsitans submorsitans* ont été également capturés au niveau des rivières, dans le village de Fanidiama.

#### Résultats sur la prévalence des trypanosomes et l'action des trypanocides

Les taux de prévalence des infections par village, chez des sujets suspects, ont varié entre 4 p.100 à Lofigué et 28 p.100 à Fanidiama avec une moyenne générale de 15,75 p.100 (63 positifs/400 prélèvements). A l'exception de Lofigué, le taux de prévalence a été partout supérieur à 10 p.100. Sur un total de 63 infections enregistrées, 46 étaient dues à *T. congolense* (73,02 p.100) et 17 à *T. vivax* (26,98 p.100) (tableau 1).

Tableau 1 : Prévalence des trypanosomes dans les sites choisis

Localité	Nbre de prélèvements	Positifs à <i>T. vivax</i>	Positifs à <i>T. congolense</i>	Nbre total de positifs	Prévalence
Kafonao	50	0	7	7	14
Lofigue	50	0	2	2	4
Kamberegue	50	1	7	8	16
Diou	50	3	6	9	18
Fanidiama	50	3	11	14	28
Zegoua	50	2	6	8	16
Nafegue	50	3	3	6	12
Dioumatene	50	5	4	9	18
<b>Total</b>	<b>400</b>	<b>17</b>	<b>46</b>	<b>63</b>	<b>15,75</b>
<b>Pourcentage d'infection par espèce de trypanosome</b>		<b>26,98</b>	<b>73,02</b>		

Les résultats de l'évaluation de l'action des 2 trypanocides sont présentés dans les tableaux 2 et 3.

Ils ont montré des taux d'échecs à J14 de 24,14 p.100 (7 rechutes/29 traités) pour le diminazène et de 33,33 p.100 (9 rechutes/27 traités) pour l'isométagidium. Au total il y'a eu 16 rechutes à J14 (7 dans le groupe « diminazène » et 9 dans le groupe « isométagidium ») qui ont été soumises à un traitement « sanatif » et contrôlées à J28.

**Tableau 2** : Action du diminazène sur 29 cas d'infection et action de l'isométagidium sur les rechutes du diminazène

Localité	Nbre d'animaux traités à J0	Nbre d'animaux contrôlés à J14	Echecs au traitement DIM à J14	Echecs au traitement DIM re-traités à l'ISMM	Echecs dans le groupe DIM après les 2 traitements
Kafono	3	3	2	2	0
Lofigué	1	1	0	0	0
Kambérégué	4	3	0	0	0
Diou	4	3	1	1	1
Fanidiana	8	8	3	3	1
Zégoua	4	4	0	0	0
Nafégué	3	3	1	1	1
Dioumaténé	4	4	0	0	0
<b>Total</b>	<b>31</b>	<b>29</b>	<b>7</b>	<b>7</b>	<b>3</b>
		<b>22 T.c + 7 T.v</b>	<b>6 T.c + 1 T.v</b>		<b>2 T.c + 1 T.v</b>
Taux d'échec			<b>24,14</b>		

**Tableau 3** : Action de l'isométagidium sur 27 cas d'infection et action du diminazène sur les rechutes de l'isométagidium

Localité	Nbre d'animaux traités à J0	Nbre d'animaux contrôlés à J14	Echecs au traitement ISMM à J14	Echecs au traitement ISMM re-traités au DIM	Echecs dans le groupe ISMM après les 2 traitements
Kafono	4	4	3	3	1
Lofigué	1	0	0	0	0
Kambérégué	4	3	2	2	0
Diou	5	5	1	1	0
Fanidiana	6	5	2	2	1
Zégoua	4	2	0	0	0
Nafégué	3	3	0	0	0
Dioumaténé	5	5	0	0	0
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>27</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>2</b>
		<b>19 T.c + 8 T.v</b>	<b>8 T.c + 1 T.v</b>		<b>2 T.c + 0 T.v</b>
Taux d'échec			<b>33,33</b>		

DIM = Diminazène, ISMM = Isométagidium, T.c = Trypanosoma congolense, T.v = Trypanosoma vivax

Les contrôles après le deuxième traitement (le traitement sanatif) ont donné un taux d'échecs de 37,5 p.100 (6/16). Le rapport de ces 6 cas de rechute après le traitement sanatif ramené aux 56 souches étudiées au départ (29 dans le groupe « diminazène » et 27 dans le groupe « isoméтамidium ») a donné un taux d'échec simultané des 2 médicaments de 10, 71 p.100.

Une analyse de la résistance par espèce de trypanosome montre, d'une part, que 27,27 p.100 (6/22) des infections à *T. congolense* et 14,28 p.100 (1/7) des infections à *T. vivax* ont résisté au diminazène ; et d'autre part que 42,10 p.100 (8/19) des infections à *T. congolense* et 12,50 p.100 (1/8) des infections à *T. vivax* ont résisté à l'isoméтамidium.

#### 4. Discussion

La première étape de l'évaluation consistait en une phase diagnostique de la maladie sur des bovins suspects selon l'opinion des propriétaires ou les observations de l'équipe d'enquête. Cette étape permet de générer des informations de base sur le risque d'infection, la fréquence des espèces de trypanosomes et de tsé-tsé, ainsi que d'autres. Elle permet également de passer beaucoup plus rapidement à la deuxième étape qui consistait à la constitution des 2 groupes à étudier d'où un gain de temps conséquent.

La méthode utilisée dans cette étude est une modification de celle d'Eisler (Eisler et al. 2000) qui constitue l'approche de base pour l'évaluation de la résistance à l'isoméтамidium sur le terrain. Elle consiste au suivi parasitologique d'animaux traités pendant au moins 8 semaines avec des examens parasitologiques de contrôle tous les 14 jours. A cause de sa longue durée, la méthode s'est avérée contraignante pour nos paysans qui doivent consacrer beaucoup de temps aux séances de contrôle et coûteuse car nécessitant souvent le maintien et le fonctionnement sur le terrain des équipes de techniciens et du matériel de laboratoire pendant plusieurs semaines. Dans la présente étude, nous avons utilisé une version raccourcie dont la durée est de 28 jours nécessitant seulement 2 contrôles parasitologiques aux 14<sup>ème</sup> et 28<sup>ème</sup> jours après traitement, au lieu de 4 dans le protocole d'Eisler.

L'évaluation de la résistance au diminazène et à l'isoméтамidium a été basée sur les taux d'échecs aux traitements observés à J14 pour chacun des deux médicaments et à J28 pour ce qui concerne les traitements sanatifs (poly résistances). En l'absence d'un seuil consensuel à partir duquel un taux d'échecs peut être interprété comme le signe d'une résistance à l'isoméтамidium ou au diminazène, il a été adopté le taux de 25% proposé par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans l'évaluation de la résistance dans le cas du paludisme. Cependant, l'absence de « groupe témoin », la réduction du temps de suivi et la faible taille des échantillons (50 bovins par groupe) pose le problème du traitement des données par les tests statistiques courants qui sont le CHI-2 (Rowlands, 2000) ou l'analyse des courbes de survie et du rapport des risques entre groupe traité et groupe témoin (Eisler et al. 2000).

Les résultats obtenus montrent l'inefficacité de l'isoméтамidium sur 33p.100 des bovins porteurs de trypanosomes et l'inefficacité du diminazène sur 24,13 p.100 des bovins infectés. Les deux médicaments, se sont montrés simultanément inefficaces sur 10,5 p.100 de ces bovins. Les rechutes constatées après le traitement sont certainement dues à une résistance vraie et non à une mauvaise administration des trypanocides dans la mesure où les injections ont été faites par nos propres équipes. Ainsi, les doses administrées ont été adéquates pour

l'élimination des trypanosomes sensibles chez les animaux infectés dans la mesure où la posologie a été scrupuleusement respectée. L'isométymidium a été utilisé à la double dose curative, 0,5 mg/kg, une raison de plus de penser que les rechutes sont plus dues à une inefficacité de ce médicament qu'à un sous-dosage. Le taux de rechutes après traitement à l'isométymidium (plus du tiers des cas) est plus élevé qu'après traitement au diminazène. Ceci s'explique par une absorption très lente de l'isométymidium par voie i.m. (Kinabo et Bogan, 1988) si bien que le parasite se trouve exposé à des concentrations sublétales du produit pendant une longue période (Uilenberg, 1998).

La détermination des échecs après traitement au diminazène est nettement plus difficile quand on sait que ce produit est un curatif avec une demi-vie relativement courte de 2 à 188 heures (Kellner et Volz, 1985). Aussi les infections nouvelles (par des trypanosomes sensibles) sont possibles entre 2 contrôles consécutifs si bien que les mesures de résistance par cette méthode sont moins fiables que pour l'isométymidium.

Les résultats issus de notre étude montrent que la situation de la résistance aux trypanocides est assez inquiétante dans la zone, si l'on considère que les taux d'échecs de traitement généralement sont sous-estimés. En effet, ces échecs ne prennent en compte ni les rechutes tardives, après J14 ni même les rechutes précoces avant J14. La courte durée du suivi est imposée par les conditions d'expérimentation en milieu réel qui ne permettent pas d'exclure les possibilités de réinfection au-delà des 14 jours après un traitement curatif. Cette étude confirme l'existence de résistances aux trypanocides dans le cercle de Kadiolo et les taux de résistance parasitologique enregistrés sont comparables à ceux observés dans le cercle voisin de Sikasso (Diall et al. 2009).

## 5. Conclusion

Les taux d'échecs enregistrés sont révélateurs de l'existence de trypanosomes résistants dans les élevages bovins du cercle de Kadiolo et sont comparables à ceux observés dans le cercle de Sikasso. Ces résistances pourraient expliquer, au moins en partie, les mortalités massives enregistrées dans le cercle de Kadiolo en 2008-2009. Une stratégie combinant une action de lutte anti vectorielle, un usage approprié des médicaments trypanocides et une gestion améliorée du troupeau (traitements stratégiques contre les helminthes comme l'ivermectine ou la moxidectine) pourrait améliorer l'état sanitaire des troupeaux en général et guérir des bovins déjà infectés.

## Références

Bass B. Diarra et al., 2016. Etude de base entomologique en prélude à une campagne de lutte contre la trypanosomiase dans les cercles de Kadiolo et Sikasso au Mali. *Revue Malienne d'Infectiologie et de Microbiologie*, Tome 8, 1-13.

Bocoum Z. Diarra et al., 2012. Prevalence in the Bovine Trypanosomiasis Kadiolo Circle. *J Community Med Health Educ*, 2:9, 1-3.

Diall O et al., 2003. Evaluation de la chimiorésistance des trypanosomes dans la zone sub-humide cotonnière de l'Afrique de l'Ouest. Pages 427-432 in *Proceedings of the 27th meeting*

of ISCTRC. September 29th – October 3rd 2003, Pretoria, South Africa, AU- IBAR Publication 122.

Diall O et al., 2009. Baseline survey on bovine trypanosomosis and chemoresistance in the Sikasso circle of Mali as a preamble to a vector control operation. 249-260 pp in Proceedings of 30th ISCTRC Meeting, Kampala, 21<sup>st</sup> -25<sup>th</sup> September 2009, AU- IBAR Publication 125.

DNPIA (Direction Nationale des Productions et des Industries Animales) 2017 : *Rapport annuel 2016*. Bamako, 59 pages.

Eisler MC et al., 2000. *A rapid method for assessment of trypanocidal resistance in the field*. Paper 353 in the proceedings of the 9<sup>th</sup> Symposium of International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE 9), Breckenridge, Colorado, 6-11 august 2000, International Symposia on Veterinary Epidemiology and Economics publication.

Kellner H-M. Eckert H. G. & Volz M. H., 1985. Studies in cattle on the disposition of the antitrypanosomal drug diminazene diaceturate (Berenil). *Trop Med Parasitol*, 36, 199-204.

Kinabo L. D. B. & Bogan J. A. 1988: The pharmacology of isometamidium. *J Vet Pharmacol Therap*, 11, 233-245.

LCV (Laboratoire Central Vétérinaire) 1986 : *La trypanosomose bovine dans les élevages villageois de Djinokorala et Yaban (secteur de Sikasso)*. Bamako, Rapport d'enquêtes de la section Protozoologie, 3 pages.

McDermott J.J. Woitag T. Sidibé I. Bauer B. Diarra B. Ouédraogo D. Kamuanga M. Peregrine A. Eisler M. Zessin K-H. Mehlitz D. Clausen P-H. 2003 : Field studies of drug-resistant cattle trypanosomes in Kéné Dougou province, Burkina Faso. *Acta Tropica*, 86, 93-103.

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

Rowlands, G.J. 2000 : *Detecting drug resistance of trypanosomal infections to diminazène aceturate - a possible field test?* Conference paper in Newsletter of Integrated Control of Pathogenic Trypanosomes and their Vectors, N°2 April.

Uilenberg G. 1998 : *A field guide for the diagnosis, treatment and prevention of African animal trypanosomosis* (adapted from the original edition by W.P. Boyt), FAO, Rome, 158 pages.