

**UNIVERSITE DE MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE MONTPELLIER II

Discipline : Sciences biologiques

Formation doctorale : Parasitologie

Ecole doctorale : Sciences chimiques et biologiques pour la santé

Présentée et soutenue publiquement

par

Aimé Gilles Ako Adjami

Le 27 Octobre 2006

Titre :

**CONTRIBUTION A LA SURVEILLANCE ENTOMOLOGIQUE
ET EPIDEMIOLOGIQUE DE L'ONCHOCERCOSE EN
AFRIQUE DE L'OUEST**

JURY

M. Bernard GODELLE, Professeur, Université Montpellier II

Examineur

M. Catherine BOURGOUIN, Directeur de recherche, Institut Pasteur

Rapporteur

M. Michel BOUSSINESQ, Directeur de recherche, IRD

Rapporteur

M. Bernard PHILIPPON, Directeur de recherche émérite, IRD

Examineur

M. Gérard CUNY, Directeur de recherche, IRD, Montpellier

Directeur de thèse

DEDICACE

A mon épouse, pour son soutien constant. Euphrasie, merci pour tes nuits blanches à mes côtés et à ta patience. Ce travail est aussi le tien.

A mes enfants, papa rentrera un peu plus tôt à la maison.

A mes parents, merci pour vos prières, vos bénédictions et vos exhortations à la persévérance.

A mes frères et sœurs, merci pour vos encouragements, pour votre soutien.

REMERCIEMENTS

Les données utilisées dans ce document sont la propriété de l'ex programme OMS de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP pour Onchocerciasis Control Programme), qui a assuré le financement de leur collecte. L'analyse des spécimens relatifs à l'étude du mouvement migratoire des simules et l'interprétation des données de génétique des populations ont été effectuées avec l'appui de l'IRD, grâce à une bourse de formation continue qui a permis de financer trois séjours de trois mois chacun à Montpellier .

Ce travail a été réalisé pour l'obtention par l'auteur du grade de Docteur de l'université Montpellier II, dans la formation doctorale Parasitologie. Les travaux de cette thèse ont été réalisés au laboratoire de biologie moléculaire du MDSC à Ouagadougou au Burkina Faso et au Laboratoire de Recherche et de Coordination sur les Trypanosomoses (LRCT), implantation principale de l'unité mixte de recherche 017 IRD-CIRAD (Institut de la Recherche pour le Développement - Centre International de Recherche Agronomique pour le Développement) à Montpellier en France.

Je remercie en tout premier lieu le Directeur de la division de la lutte contre les maladies transmissibles du bureau régional de l'Organisation Mondiale de la Santé pour l'Afrique, pour m'avoir autorisé à utiliser les données de l'OCP et du MDSC et à les exploiter dans le cadre de cette thèse.

Je remercie également le Directeur Général de l'Institut pour la Recherche et le Développement (IRD) et le Directeur du département Soutien et Formation aux communautés du Sud de l'IRD pour avoir mis à ma disposition une bourse de formation continue.

Je tiens aussi à remercier très sincèrement les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :

Michel Boussinesq, d'avoir accepté d'être rapporteur de ma thèse et ainsi de partager vos larges connaissances sur le sujet et votre expérience d'expert de l'OMS pour l'onchocercose.

Catherine Bourgouin, d'avoir à juger ce travail et de le rapporter. Merci de me faire partager vos connaissances de la biologie et de la génétique des vecteurs.

Bernard Godelle, qui me fait l'honneur de siéger dans mon jury de thèse, merci d'avoir pris le temps de juger ce travail.

Bernard Philippon, infiniment merci pour l'intérêt porté à ce sujet. Vos larges connaissances, vos conseils et suggestions m'ont beaucoup aidé dans les « méandres » de l'entomologie de l'onchocercose, et de mieux centrer ce travail dans le contexte actuel de la lutte. Merci pour y avoir consacré beaucoup de temps à la lecture des manuscrits.

Gérard Cuny, directeur du LRCT et directeur de l'UMR 017 de l'IRD-CIRAD, qui a accepté de m'accueillir dans son laboratoire et qui a consenti à diriger les travaux de cette thèse. Ce travail n'aurait pas été ce qu'il est sans ton aide, ton appui et ta patience. Notre premier contact remonte au transfert de la technologie des microsattellites à l'OCP en 1998. Ce travail est le fruit de cette longue et fructueuse collaboration. Merci très sincèrement de m'avoir fais confiance.

Avant d'exposer les résultats de mon travail, qu'il me soit encore permis d'exprimer ma gratitude à toutes les personnes morales et physiques qui ont contribué à sa réalisation.

Au Dr Laurent Yaméogo, Coordinateur du Programme Africain de lutte contre l'Onchocercose (APOC) pour ton aide précieuse et ton soutien depuis le début de cette entreprise. Merci pour tes encouragements puisse Dieu te les rendre au centuple.

Au Pr. Bréhima Koumaré, Directeur du MDSC et au Dr Sam Bugri, ex directeur du MDSC, qui ont soutenu cette initiative.

A Sophie Ravel, ton encadrement de qualité depuis le transfert de la technologie des microsattellites à l'OCP à Bouaké et lors de mes différents stages à Montpellier dans le cadre de cette étude, m'ont été d'une aide précieuse, autant que tes critiques et suggestions permanentes pour la réalisation pratique de ce travail. Je te prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon attachement.

Je ne saurais oublier tous mes collègues de travail sans exception aucune, et plus particulièrement :

Laurent Toé, chef du service du laboratoire de biologie moléculaire du MDSC, pour ton intérêt porté à ce travail.

Yiriba Bissan, pour tes encouragements à la valorisation des travaux de recherches réalisés par l'OCP. Kôrô Bissan, merci aussi pour la lecture des manuscrits (même si tu as dû me faire payer plusieurs amendes !!!).

Moukaïla Noma, chef de l'unité CEV du programme APOC, pour ton soutien malgré ton programme parfois très chargé.

Flavien Aké, pour tes encouragements, ton soutien moral et matériel.

Mahamoudou Djingarey, Denis Kandolo, Philippe Yadgho, Didier Traoré, Sounkalo Moussa Sanfo pour vos conseils avisés.

Pierre Nikiema, pour ton inestimable soutien en cartographie et surtout pour ta bonne humeur qui me faisait décompresser quand il le fallait.

Le personnel du service de la documentation de MDSC/APOC et son responsable Madame Georgette Kambiré, pour leur aide précieuse dans la recherche bibliographique.

Enfin mes remerciements vont à l'endroit de tous les chercheurs et amis de l'UMR017 de l'IRD : Stéphane Herder, Pascal Grébaut, Vincent Jamonneau, Anne Geiger, Dominique Pradel, pour vos remarques pertinentes, votre amitié et vos encouragements sans oublier les fraternelles invitations à domicile.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETAT DES CONNAISSANCES	9
 <u>Chapitre I</u> : L'ONCHOCERCOSE	
1.1. Historique.....	10
1.2. La maladie.....	11
1.2.1. Définition.....	11
1.2.2. Signes cliniques.....	12
1.2.2.1. Période de prépatence et d'incubation	12
1.2.2.2. Période d'état	13
1.3. Le diagnostic de l'onchocercose	15
1.4. Géorépartition	16
1.4.1. Afrique tropicale et Yémen	16
1.4.2. Amérique latine	16
 <u>Chapitre II</u> : LES VECTEURS ET LE PARASITE	
2.1. Les Vecteurs	18
2.1.1. Taxonomie et distribution des vecteurs	18
2.1.1.1. Position systématique	18
2.1.1.2. Distribution des espèces de <i>Simulium damnosum s.l.</i> en Afrique de l'ouest	18
2.1.2. Biologie de <i>Simulium damnosum s.l</i>	19
2.1.2.1. Cycle de vie de <i>Simulium damnosum s.l</i>	19
2.1.2.2. Les déplacements des simules	21
2.2. Le parasite	27
2.2.1. Cycle de développement du parasite	27
2.2.1.1. Chez la simule	27
2.2.1.2. Chez l'homme	27
2.2.2. Relation entre la durée du cycle parasitaire et la durée du cycle gonotrophique	28
2.2.3. Polymorphisme parasitaire	28

Chapitre III : EPIDEMIOLOGIE DE L'ONCHOCERCOSE

3.1. Description générale des aires d'endémicité	31
3.2. Les modulateurs de l'épidémiologie onchocerquienne	31
3.3. Epidémiologie locale	33
3.3.1. Dualité des onchocercoses de savane et de forêt	33
3.3.2. Relation entre la gravité de la maladie et la répartition des vecteurs	33

Chapitre IV : LA LUTTE CONTRE LA MALADIE

4.1. Le programme OCP	35
4.1.1. Origine et mise en place	35
4.1.2. La stratégie de lutte contre le vecteur	36
4.1.2.1. Principe de base	36
4.1.2.2. Aspects opérationnels	37
4.1.2.3. L'évaluation entomologique	38
4.1.2.4. L'évaluation épidémiologique de la lutte antivectorielle	40
4.1.3. La lutte chimiothérapique	41
4.1.4. Situation actuelle dans l'aire de l'OCP et perspectives	43
4.2. Les autres programmes de lutte	45

MATERIEL ET METHODES 46

1. <u>Zones d'étude du mouvement migratoire des simules</u>	47
1.1. LA SIERRA LEONE	48
1.1.1. Présentation physique	48
1.1.1.1. Présentation générale du pays	48
1.1.1.2. Climat	48
1.1.1.3. Végétation	48
1.1.1.4. Relief	48
1.1.2. Situation de l'onchocercose	49

1.2. LA GUINEE CONAKRY	51
1.2.1. Présentation physique	51
1.2.1.1. Présentation générale du pays	51
1.2.1.2. Climat	51
1.2.1.3. Végétation	52
1.2.1.4. Relief	52
1.2.2. Situation de l'onchocercose	52
1.3. LE MALI	56
1.3.1. Présentation physique	56
1.3.1.1. Présentation générale du pays	56
1.3.1.2. Climat	56
1.3.1.3. Végétation	56
1.3.1.4. Relief	57
1.3.2. Situation de l'onchocercose	57
2. <u>Changements climatiques et onchocercose : zones d'étude</u>	60
2.1. Présentation physique de la Côte d'Ivoire	61
2.1.1. Présentation générale	61
2.1.2. Climat	61
2.1.3. Végétation	62
2.1.4. Relief	63
2.1.5. Population	63
2.2. Situation de l'onchocercose	65
3. <u>Méthodes de capture et identification des simulies et des onchocercques</u>	70
3.1. Méthode de capture des simulies	70
3.2. Méthode d'identification morphologique des simulies	71
3.3. Méthode de détermination de l'âge physiologique	72
3.4. Observation et collecte des larves évolutives d' <i>O. volvulus</i> "	72
3.5. Détermination des indices entomologiques de transmission	72
3.6. Identification moléculaire des simulies et des onchocercques	74

4. Méthode de diagnostic de l'onchocercose	74
4.1. La biopsie cutanée exsanguine (BCE)	75
4.2. Le « DEC patch test »	76

PREMIERE PARTIE :

ETUDE DES MOUVEMENTS MIGRATOIRES SIMULIDIENS EN AFRIQUE DE L'OUEST : IMPLICATIONS EPIDEMIOLOGIQUES ET INTERETS POUR LA SURVEILLANCE DE L'ONCHOCERCLOSE	77
---	-----------

<u>Article 1</u> : Mouvements migratoires de <i>Simulium damnosum s.l.</i> sur l'axe Sierra Leone-Guinée-Mali : Analyse des données entomologiques et parasitologiques de 1977 à 2001	78
---	----

<u>Article 2</u> : Spatiotemporal study of genetic variability of <i>Simulium damnosum s.l.</i> on the axis Sierra Leone – Guinea – Mali	117
---	-----

DEUXIEME PARTIE :

DEVELOPPEMENT DE TESTS DIGNOSTICS POUR L'ONCHOCERCLOSE	135
---	------------

<u>Article 3</u> : Detection of <i>Onchocerca volvulus</i> infection by O-150 polymerase chain reaction analysis of skin scratches	136
---	-----

<u>Article 4</u> : Topical application of diethylcarbamazine to detect onchocerciasis recrudescence in west Africa	141
---	-----

TROISIEME PARTIE :

CHANGEMENTS BIOCLIMATIQUES ET ONCHOCERCLOSE : ENJEUX POUR LA SURVEILLANCE	151
--	------------

<u>Article 5</u> : The current status of onchocerciasis in the forest/savanna transition zone of Cote d'Ivoire	152
---	-----

<u>Article 6</u> : Impact des modifications bioclimatiques sur la distribution des vecteurs de l'onchocercose dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire	163
--	-----

DISCUSSION GENERALE	194
1. SYNTHESE DES PRINCIPAUX RESULTATS	195
1.1. Etudes des mouvements migratoires de <i>S. damnosum s.l</i>	195
1.1.1. Implications épidémiologiques	195
1.1.2. Intérêts pour la surveillance	196
1.2. Outils diagnostics pour la surveillance de l'onchocercose	197
1.2.1. Le test PCR de grattage cutané "PCR skin scratch test"	197
1.2.2. Le test de pansement à la diéthylcarbamazine (DEC) "DEC patch test"	197
1.3. Changements bioclimatiques et onchocercose	199
1.3.1. Le bassin fluvial du Bandama en Côte d'Ivoire	199
1.3.2. Les foyers de la basse Comoé et du bas Bandama en Côte d'Ivoire	200
2. PERSPECTIVES	201
2.1. Détermination des sources de migration des vecteurs simulidiens	201
2.2. Quel test diagnostic pour la surveillance de l'onchocercose ?	202
2.3. Nécessité d'une identification plus fine d' <i>O. volvulus</i>	204
3. CONCLUSIONS	206
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	207
ANNEXES	223

INTRODUCTION



Village abandonné au Burkina Faso
(Photo : OCP)



Des aveugles en file indienne, guidés par un enfant
(Photo : OCP)

Des images du passé ! ! ! !

Illustration 1 : L'onchocercose hier et aujourd'hui

Aujourd'hui ! ! ! !

Plantation de canne à sucre dans une zone libérée de l'onchocercose (Photo : OCP)



Nouveau village proche d'une rivière dans une vallée fertile, précédemment désertée. (Photo : OCP)

INTRODUCTION

L'onchocercose est une maladie parasitaire causée par *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893), Nématode Filarioidea de la famille des Onchocercidae et du genre *Onchocerca*. La femelle du parasite se pelotonne dans des nodules dermiques sous la peau des sujets infectés ; lorsqu'elle est fécondée par le mâle, elle peut, pendant 12 à 14 ans produire des millions de microfilaires. Ces dernières vivent jusqu'à deux ans environ dans les tissus dermiques et le globe oculaire. Leur mort et la lyse qui s'ensuit entraînent des réactions inflammatoires et des lésions oculaires pouvant aboutir progressivement à des troubles ophtalmiques graves, dont la cécité. Au niveau de la peau, les microfilaires provoquent des éruptions qui entraînent d'intenses démangeaisons, des plissements, des amincissements ou des épaissements et une dépigmentation localisée. Dans les villages fortement infestés on peut noter des adénites et même un affaiblissement général, avec perte de poids, voire des troubles de croissance. La transmission du parasite, d'homme à homme, est obligatoirement vectorielle et assurée exclusivement par des simulies, Diptères Nématocères, appartenant à la famille des Simuliidae et au genre *Simulium* Latreille, et en Afrique tropicale, aux complexes d'espèces *Simulium damnosum* et *S. neavei*.

En fonction de leur aire de prédilection, on distingue chez *S. damnosum s.l.* un groupe d'espèces de forêt et un groupe d'espèces de savane. Par ailleurs, deux souches d'*O. volvulus* génétiquement distinctes sont présentes en Afrique de l'ouest. Comme celui de toute maladie à vecteurs, le cycle de transmission des souches d'*O. volvulus* par les espèces vectrices de *S. damnosum s.l.*, est intimement dépendant des relations qui lient le parasite, l'hôte invertébré (la similie) et l'hôte vertébré (l'homme) ainsi que des contacts entre ces trois protagonistes. La biologie de chaque composant de ce système pathogène est modulée par différents facteurs à la fois génétiques, environnementaux, etc...

Les facteurs génétiques déterminent chez le vecteur des caractéristiques biologiques telles que sa compétence vectorielle intrinsèque reflétant le degré d'adaptation avec le parasite, sa longévité, sa fécondité, sa capacité de vol, etc... A l'intérieur de chaque entité génétique, les facteurs environnementaux vont influencer sur la bioécologie du vecteur à savoir son abondance, sa dispersion (influencée notamment par la végétation et les conditions climatiques variables suivant les saisons), etc... L'interaction entre tous ces facteurs permet de définir, en Afrique de l'ouest, deux types épidémiologiques d'onchocercose qui épousent dans

l'espace, la distribution des vecteurs et des souches parasitaires : l'onchocercose cécitante, plus prévalente en savane et l'onchocercose à faible incidence de cécité en forêt.

L'importance de l'onchocercose en santé publique et surtout son impact socio-économique dans les savanes d'Afrique de l'ouest, notamment sur le peuplement des vallées, ont conduit à l'élaboration à la fin des années 1960 puis à la mise en œuvre en 1974 d'un vaste et ambitieux programme, le Programme de Lutte contre l'Onchocercose dans le Bassin de la Volta, devenu Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP pour *Onchocerciasis Control Programme*). Les limites de l'aire initiale de ce programme visaient à couvrir l'aire de répartition de l'onchocercose dite de savane, considérée comme grave sur la base de son incidence oculaire élevée mais aussi de son impact socio-agronomique important. L'objectif de l'OCP, défini par un accord cadre entre les gouvernements et l'OMS (Anonyme, 1973), était l'élimination de l'onchocercose en tant que problème de santé publique et d'importance économique.

Du fait de l'absence de tout vaccin ou d'un médicament utilisable en campagne de masse contre la maladie, la lutte anti-vectorielle a été la méthode initiale unique de lutte contre la maladie, de 1974 à 1988. Elle était la seule permettant la rupture de la chaîne de transmission par destruction du vecteur à son stade le plus vulnérable, c'est-à-dire au stade larvaire, car les populations adultes de simules sont hors d'atteinte en raison de leur dispersion et de l'ubiquité de leurs lieux de repos. La capacité de déplacements aériens de *S. damnosum s.l.*, et la distribution de l'onchocercose de savane, ont été déterminants dans la définition de l'aire d'exécution de l'OCP. En effet, contrairement aux projets antérieurs de lutte antivectorielle contre l'onchocercose réalisés à des échelles plus réduites dans certains bassins fluviaux africains, l'OCP a été planifié sur 654000 km², puis cette aire initiale a été portée à 1,3 millions de km² (illustration 2), pour tenir compte des possibilités de déplacement du vecteur et se protéger de la réinvasion par des femelles migrantes en provenance de zones extérieures non traitées (Le Berre et al., 1990). En 1988, à la lutte antivectorielle s'est ajoutée une stratégie chimiothérapeutique basée sur des campagnes de masse de distribution d'ivermectine. Ce médicament a été utilisé principalement dans les zones d'extension occidentales et méridionales de l'OCP, d'abord par distribution passive¹, puis par distribution

¹ Dans la distribution passive, le médicament est stocké dans des postes de santé fixes et les patients sont invités à s'adresser à ces postes.

à base communautaire², puis par distribution sous directive communautaire, stratégie de distribution par les communautés elles-mêmes, désignée sous l'appellation TIDC (Traitement à l'Ivermectine sous Directive Communautaire). L'OCP est arrivé à son terme fin 2002. Les objectifs initialement fixés ont été largement atteints : la transmission de l'infection a été virtuellement interrompue dans la quasi-totalité de l'aire du programme. La morbidité due à l'onchocercose y a été entièrement contrôlée et, l'onchocercose ne constituait plus un problème de santé publique, ni un obstacle au développement socio-économique (Boatin, 2003). Depuis la fin de l'OCP, la surveillance de la maladie et les traitements éventuels par l'ivermectine sont assurés par les services nationaux de santé des anciens pays membres. Le TIDC est la seule méthode d'intervention retenue dans ces pays pour cette phase post-OCP.

Avec l'arrêt des traitements larvicides, on a observé le retour et/ou la recrudescence prévue des populations de vecteurs. Le parasite n'étant pas éradiqué, sa dissémination par les mouvements de simulies de grande amplitude reste donc théoriquement possible. En l'absence de lutte antivectorielle à grande échelle, ce constat souligne la nécessité d'une amélioration des connaissances sur les mouvements migratoires des simulies afin (i) d'élaborer une surveillance entomologique adéquate, capable de détecter précocement une reprise de la transmission par l'estimation des taux d'infectivité des populations de vecteurs et (ii) de mieux cibler la lutte chimiothérapique (le TIDC). L'étude des migrations de simulies est l'objet des deux premiers articles de ce travail.

Un contexte épidémiologique nouveau est né du succès de l'OCP : faibles prévalences de la maladie dans les communautés et faibles charges parasitaires individuelles. Cette situation commande une surveillance épidémiologique adaptée, impliquant la détection précoce des infections ou de ses recrudescences chez l'homme. Cette surveillance doit par conséquent garantir les acquis de l'OCP et assurer une maîtrise durable de la maladie jusqu'à son élimination totale. Une telle surveillance suppose de disposer d'outils diagnostiques très sensibles et spécifiques.

Le changement climatique global observé ces dernières décennies, n'épargne pas l'Afrique de l'ouest, frappée par les phénomènes récurrents de sécheresse, désertification etc.... Ces modifications climatiques affectent l'hydrologie, l'humidité, le couvert végétal, qui

² Distribution dans les villages par des distributeurs, mais gestion générale assurée par des personnels de santé

sont des facteurs influant sur la bio écologie et la répartition des espèces de simulies. L'étude de l'impact de ces perturbations au niveau de la répartition des espèces vectrices, de la transmission et des faciès épidémiologiques apparaît nécessaire afin de concevoir la lutte et la surveillance de l'onchocercose dans un contexte épidémiologique évolutif.

Ce travail est une contribution à la surveillance entomologique et épidémiologique de l'onchocercose dans le contexte ouest-africain, dans l'optique d'assurer une vigilance voire un système d'alerte susceptible de prévenir et de réduire les recrudescences. Les progrès en biologie moléculaire ont permis de disposer d'un nouveau type de données, les données génétiques. Cette information apporte un regard nouveau sur l'identification des acteurs du système pathogène et sur les processus démographiques et évolutifs auxquels sont soumis les populations naturelles. Nous avons appliqué les techniques correspondantes dans les différentes études menées dans ce travail.

Le manuscrit se compose de six parties. La première partie fait l'état des connaissances successivement sur la maladie, les acteurs du système pathogène, le diagnostic et la lutte contre la maladie. La seconde partie présente le cadre des études et les méthodes utilisées pour les mener. Nos travaux sont présentés de la troisième à la cinquième partie du manuscrit. Dans la troisième partie, nous exposons les travaux portant sur l'étude des mouvements migratoires de simulies, avec deux articles intitulés : « Mouvements migratoires de *Simulium damnosum* s.l. sur l'axe Sierra Leone Guinée Mali : analyse des données entomologiques et parasitologiques de 1977 à 2001 » et « Spatiotemporal study of genetic variability of *Simulium damnosum* s.l. on the axis Mali - Guinea - Sierra Leone ». La quatrième partie du manuscrit aborde la problématique du diagnostic de l'onchocercose dans la phase post OCP et propose à cet effet deux nouveaux tests pour remplacer le test diagnostic traditionnel de la biopsie cutanée. Deux articles y sont consacrés : "Detection of *Onchocerca volvulus* Infection by O-150 Polymerase Chain Reaction Analysis of Skin Scratches" et "Topical application of diethylcarbamazine to detect onchocerciasis recrudescence in West Africa". La cinquième partie du manuscrit analyse l'influence des modifications bioclimatiques sur l'épidémiologie de l'onchocercose à l'aide de deux articles : "The current status of onchocerciasis in the forest/savanna transition zone of Cote d'Ivoire" et "Impact des modifications bioclimatiques sur la distribution des vecteurs de l'onchocercose dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire".

Enfin la sixième et dernière partie du manuscrit fait la synthèse des travaux par une discussion générale et une conclusion.

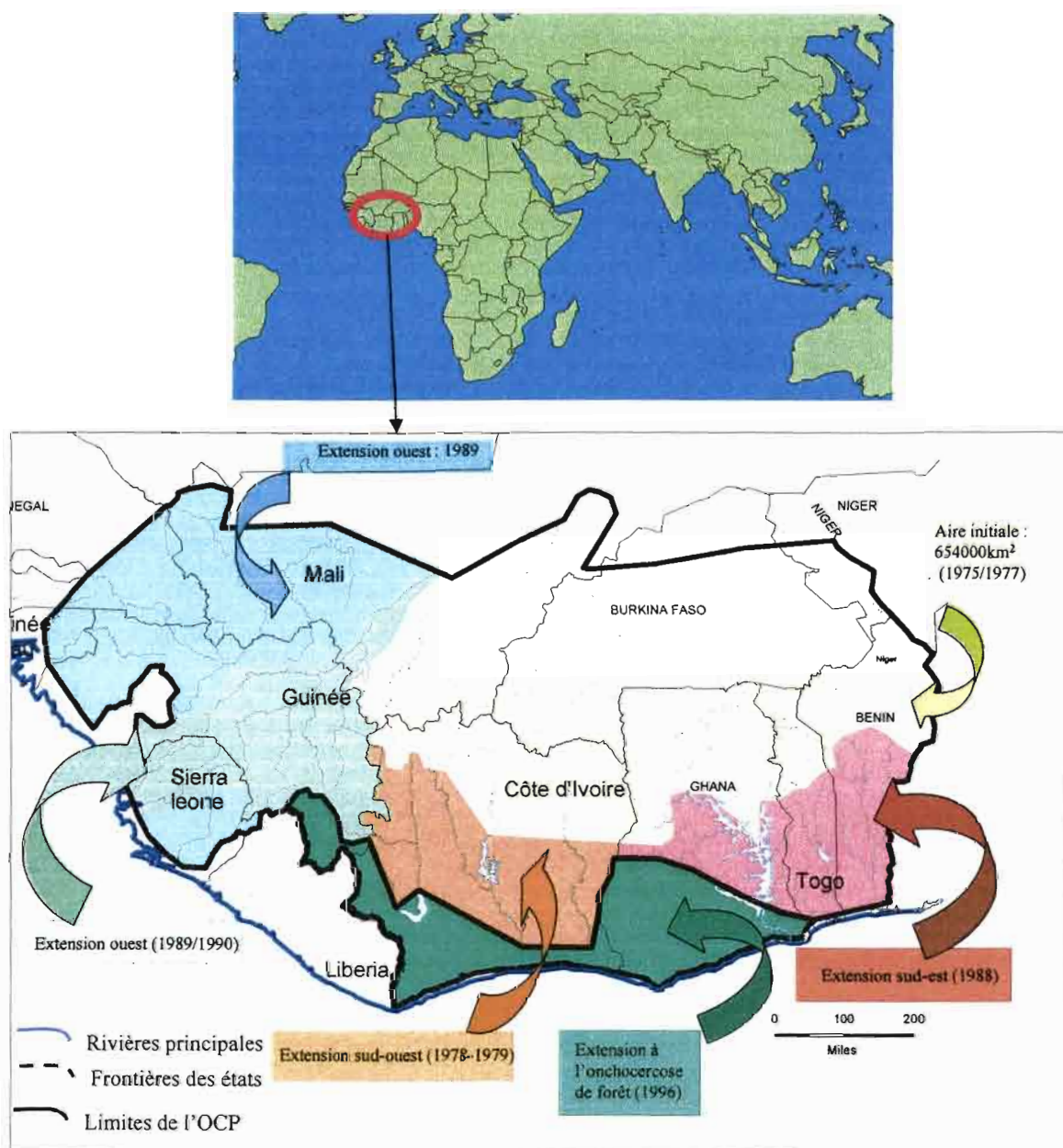


Illustration 2 : Aire initiale et extensions de l'OCP

Aires initiales + extensions sud-ouest et sud-est : 780 000 km²
 Aire d'extension maximale d'OCP : 1.3 millions de km²

ETAT DES CONNAISSANCES

CHAPITRE 1 : L'ONCHOCERCOSE

1.1 Historique

- En 1875, O'Neil, chirurgien de la marine anglaise, décrit des microfilaires découvertes dans des lésions cutanées portant le nom vernaculaire de "craw-craw" chez des habitants de la Gold Coast, l'actuel Ghana.
- En 1893, Manson, dans une courte note, décrit des vers adultes qu'il nomme *Filaria volvulus* (du latin "volvere" signifiant enroulé, à cause de l'aspect du parasite). Les prélèvements lui avaient été envoyés d'Allemagne par Leuckart, à qui la dénomination de l'espèce est restée attribuée, et avaient été obtenus chez un habitant de la Gold Coast.
- En 1910, Railliet & Henry identifient ces vers comme appartenant au genre *Onchocerca*. *Filaria volvulus* devient *Onchocerca volvulus*.
- En 1920, Montpellier & Lacroix découvrent la relation entre les microfilaires décrites par O'Neil et les vers adultes d'*O. volvulus*. Leur travaux permettent aussi de comprendre que les lésions cutanées de "gale filarienne" (craw-craw) sont une manifestation de l'onchocercose.
- En 1917, Roblès au Guatemala avait observé des lésions oculaires cécitantes sur des onchocerquiens et avait suspecté le rôle vecteur des simulies locales. Les mêmes types de lésions oculaires sont mentionnés pour la première fois, au Congo en 1921 par Ouzilleau.
- En 1926, Blacklock découvre en Sierra Leone le rôle vecteur d'une simulie, *Simulium damnosum* Theobald, 1903 et décrit les différents stades de développement du parasite chez ce vecteur.
- En 1948, Mazzotti rapporte les premiers résultats obtenus avec la diéthylcarbamazine, microfilaricide puissant, et décrit le syndrome connu sous le nom de réaction de Mazzotti, proposée comme test diagnostic.

- En 1944, Fairchild & Barreda démontrent l'efficacité du DDT sur les larves de simulies.
- En 1949, Garnham et Mac Mahon utilisent avec succès les épandages de DDT pour éliminer *Simulium neavei* vecteur d'*O. volvulus* au Kenya.
- De 1955 à 1974, en Afrique du Centre et de l'Ouest, les initiatives de Richet, Ovazza et Le Berre, permettent de mener des campagnes de lutte antivectorielle sous l'égide de l'OCCGE et de l'ORSTOM (cf. revue par Philippon & Sékétéli, 1998). Le succès de ces opérations montra que la lutte contre le vecteur de l'onchocercose était réalisable dans de vastes régions d'Afrique de l'Ouest et fit naître, au cours d'une réunion de la communauté internationale en 1968 à Tunis, l'idée d'une opération de plus grande envergure, sous la forme d'un projet régional. Cette idée fut approfondie au fil des années jusqu'à la mise en œuvre par la communauté internationale sous l'égide de l'OMS en 1974, d'un vaste programme de lutte contre l'onchocercose dans le bassin des Volta, fondé sur le contrôle des populations de *S. damnosum s.l.*, devenu Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (*Onchocerciasis Control Programme*, OCP).
- En 1982, l'activité anti-parasitaire de l'ivermectine est confirmée sur les microfilaires d'*O. volvulus*, (Aziz et al. 1982).
- En 1987, l'ivermectine reçoit l'agrément de mise sur le marché en Afrique tropicale et sont alors entreprises des campagnes thérapeutiques de masse. L'utilisation de l'ivermectine comme solution alternative à la lutte anti-vectorielle, a favorisé la naissance de nouveaux programmes de lutte. Il s'agit notamment du Programme d'élimination de l'Onchocercose dans les Amériques (*Onchocerciasis Elimination Programme for the Americas*, OEPA), créé en 1991 et du Programme Africain de Lutte contre l'Onchocercose (*African Programme for Onchocerciasis Control*, APOC), lancé en 1995.
- En 2002, c'est la clôture de l'OCP après 28 ans de lutte ininterrompue contre cette endémie en Afrique de l'Ouest.

1.2 La maladie

1.2.1 Définition

L'onchocercose est une filariose cutanéodermique causée par le ver nématode *O. volvulus* (Leuckart, 1893). Cette filaire vivipare émet des microfilaries qui envahissent le derme et les tissus oculaires, et sont ainsi à la base des manifestations cutanées et oculaires de la maladie. Le parasite est transmis à l'homme par la piqure d'une simule chez laquelle s'effectue un cycle de développement obligatoire. Les simules sont de petites mouches noires bossues du genre *Simulium* (Diptera, Simuliidae), dont les larves se développent dans les eaux courantes. La maladie est donc essentiellement concentrée en foyer le long des cours d'eau, d'où l'appellation de "cécité des rivières" donnée à l'onchocercose.

La prévalence globale exacte de l'onchocercose reste encore inconnue car les investigations épidémiologiques des aires d'endémicité ne sont pas exhaustives. Cependant, l'Afrique est le continent le plus touché avec plus de 99% des infectés (Anonyme, 1995). Dans les pays couverts par le Programme Africain de lutte contre l'Onchocercose (APOC) (pays endémiques hors OCP), la Cartographie Épidémiologique Rapide de l'Onchocercose (REMO) estime que 34.6 millions de personnes vivent avec le parasite (Remme et al., 2006). Dans l'aire de l'OCP toutefois, la prévalence de la maladie a considérablement régressé à cause de l'impact de ce programme de lutte.

1.2.2 Signes cliniques

On distingue au cours de la maladie plusieurs phases : prépatence, incubation, invasion et phase d'état.

1.2.2.1 Périodes de prépatence et d'incubation

La période de prépatence est le temps qui s'écoule entre l'introduction des larves infestantes et le moment où les microfilaries produites par les femelles fécondées peuvent être mises en évidence dans la peau. Cette période varie en moyenne de douze à quinze mois (Prost, 1980), les extrêmes étant compris entre sept et 24 mois. La période d'incubation clinique quant à elle, correspond au temps qui s'écoule entre l'inoculation des larves infestantes et les premiers signes cliniques (démangeaisons). Plus longue que la précédente, elle peut durer plusieurs années.

1.2.2.2 Période d'état

La phase d'état est caractérisée par plusieurs manifestations : nodulaires, cutanées, lymphatiques, oculaires et généralisées.

◆ Les nodules

Des nodules fibreux sous cutanés, les onchocercomes, se développent autour des vers adultes sur les plans osseux pour la plupart. Leur localisation peut varier selon les régions d'endémie. En Afrique, les localisations préférentielles sont en position basse : crêtes iliaques, grands trochanters, grill costal, région sacro-coccygienne, membres inférieurs (Anonyme, 1987). Un à cinquante nodules peuvent être dénombrés chez un même individu ; ce nombre augmente avec la durée d'exposition et donc l'âge moyen des patients. En Amérique, les nodules sont en positions plus hautes, et plus fréquemment localisés sur le crâne et la ceinture scapulaire, en relation avec la localisation dominante des piqûres des vecteurs.

◆ Les manifestations cutanées

La présence des microfilaries et leur lyse en continu engendrent de nombreuses réactions inflammatoires cutanées. Ces réactions induisent un prurit, qui peut être insupportable et se traduisent par la gale filarienne ou "craw-craw". Après plusieurs années d'infestation chronique, l'épiderme s'atrophie, devient fragile et brillant (peau de saurien ou de crocodile) ou s'épaissit (pachydermie). On peut aussi observer des troubles d'hyper- ou d'hypo-pigmentation surtout tibiale décrite par l'expression "peau de léopard". Enfin, il peut apparaître chez les patients dans certains foyers, une onchodermatite localisée, hyper réactive et chronique désignée sous le terme de "sowda" et qui se manifeste par un prurit intense, des papules, des pustules et des croûtes, un œdème, une pachydermie, une hyperpigmentation et une hypertrophie importante des ganglions lymphatiques locaux.

◆ Les manifestations lymphatiques

Elles se caractérisent par l'existence d'adénopathies indolores au niveau inguinal. On pense aussi que l'éléphantiasis pourrait être une des manifestations lymphatiques de l'onchocercose ; mais l'implication d'*O. volvulus* dans la survenue de cette lésion n'est pas encore unanimement reconnue (Boussinesq, 1997).

◆ Les manifestations oculaires

Les manifestations oculaires de l'onchocercose sont liées à l'invasion des différentes parties de l'œil par les microfilaires. Ces dernières peuvent y être trouvées mortes ou vivantes. L'atteinte oculaire peut concerner les deux segments de l'œil. Au niveau du segment antérieur, on note des kératites d'abord ponctuées puis sclérosantes (opacification de la cornée) et des iridocyclites (inflammation de l'iris et du corps ciliaire). Au niveau du segment postérieur, on observe des chorioretinites (inflammations de la rétine) et des atrophies du nerf optique. Ces complications oculaires peuvent aboutir à la cécité. Les tableaux cliniques ont été rattachés à différents niveaux de gravité, liés à l'aspect cumulatif de l'infection onchocerquienne. Il en résulte une hiérarchisation de la gravité des lésions oculaires, proportionnelle à l'intensité de la transmission et à la durée du séjour dans la zone d'endémie (Philippon, 1977).

♦ Les autres manifestations

En dehors des signes locaux sus cités, il peut s'observer une onchocercose généralisée, avec dissémination du parasite dans l'organisme. On parle d'onchocercose systémique (Boussinesq, 1997). L'état général des patients est altéré et la résistance aux infections diminue.

Dans ces manifestations cliniques, les localisations microfilariennes ne se limitent pas au derme et à l'œil. Les embryons filariens sont observés dans les organes profonds (foie, rate, reins, poumon) ainsi que dans le sang, les urines, le liquide céphalo-rachidien, les sécrétions vaginales et les expectorations (Buck, 1974). Plusieurs tableaux peuvent résulter d'une infestation importante par *O. volvulus* : des troubles du développement staturo-pondéral avec parfois infantilisme sexuel, et associés dans certains cas à une épilepsie et à un retard mental. Il est aussi possible d'associer onchocercose et infertilité par la survenue d'avortements et des troubles des règles qu'elle provoque (Boussinesq, 1997).

D'une manière générale, la fréquence, la précocité et la sévérité des différentes lésions observées dans la symptomatologie onchocerquienne, varient avec les zones bioclimatiques, les foyers et les niveaux d'endémicité définis par le nombre de personnes vivant avec le parasite, lesquels sont évalués par le diagnostic parasitologique de la maladie.

1.3 Le diagnostic de l'onchocercose

Le diagnostic de certitude de l'onchocercose est apporté par la mise en évidence du parasite dans la peau, la couche superficielle du derme constituant le lieu d'élection des microfilaires d'*O. volvulus* (Kershaw et al., 1956). Le test diagnostic de référence de l'onchocercose est la biopsie cutanée exsangue (BCE) ("skin snip", en anglais) qui a connu une évolution pour aboutir à une standardisation de la méthode grâce à un calibrage des prélèvements cutanés. La BCE a l'avantage de permettre une quantification de l'infection et de calculer les indicateurs épidémiologiques que sont la prévalence du parasitisme (nombre de sujets hébergeant des microfilaires dans la population) et la charge microfilarienne communautaire (CMFC), (Remme et al. 1986). Le premier permet d'estimer les niveaux d'endémicité. Selon Prost et al. (1980) il y a hyperendémie lorsque le taux de parasitisme dans une population dépasse le seuil de 60%. L'hypoendémie s'observe pour des taux inférieurs à 35%. Entre 35 et 60% de sujets atteints, il y a mésoendémie. La CMFC permet d'apprécier l'intensité de l'infection. On considère qu'en zone de savane d'Afrique de l'Ouest, les complications oculaires de l'onchocercose apparaissent dès que la CMFC dépasse 10 microfilaires par biopsie (Remme et al., 1989).

Cependant, les méthodes parasitologiques ne mettent pas toujours en évidence une infestation précoce ou légère (Mullen & Prost, 1983). D'autre part, les biopsies répétées indisposent les populations et cela peut affecter la compliance au dépistage voire au traitement. La mise au point de nouveaux tests diagnostiques, s'impose comme une nécessité.

1.4 Géorépartition

La maladie sévit en foyers plus ou moins nombreux et plus ou moins morcelés sur les deux tiers de l'Afrique tropicale, à l'extrême sud-ouest du Yémen et dans quelques pays d'Amérique tropicale.

1.4.1 Afrique tropicale et Yémen

En Afrique tropicale, l'endémie onchocerquienne trouve ses limites entre le 15ème degré de latitude nord et le 13ème degré de latitude sud (figure 1). La limite septentrionale de cette aire d'endémicité correspondrait schématiquement à celle des eaux assez

durablement courantes pour permettre le cycle du vecteur, selon une ligne qui va du Sénégal oriental à la pointe du Yémen, en passant par l'Ethiopie et le Soudan. Sa limite sud court du nord de l'Angola au sud de la Tanzanie en passant par le Malawi. Certains foyers cependant, se situent nettement au delà de ces limites : le foyer d'Abu Hamed sur le Nil au Soudan entre les 19ème et 20ème degrés de latitude nord, le foyer du district de Thyolo dans le sud du Malawi au niveau du 16ème degré de latitude sud et certains foyers hypo-endémiques du Mozambique non éligibles pour le TIDC pourraient dépasser au sud le 20ème degré.

Les foyers d'Afrique de l'est sont très morcelés car entretenus par des vecteurs endémiques et à faibles capacités de dispersion. Au sud du Yémen, dans la région de Taiz, existe un foyer circonscrit d'onchocercose, le seul de la péninsule arabique et donc du continent asiatique ; le vecteur y est *S. damnosum s.l.*

1.4.2 Amérique latine

En Amérique latine, les aires d'endémie ont des étendues moindres que celles d'Afrique tropicale (figure 2). Elles sont morcelées et éparses entre l'équateur et le 17^{ème} degré de latitude nord, et intéressent six pays : le Brésil (région amazonienne), la Colombie (Sud Ouest), l'Équateur (Nord Ouest), le Guatemala, le Mexique et le Venezuela (versant atlantique). Il est important de préciser que ces pays sont vastes pour la plupart, et les foyers d'onchocercose ne concernent qu'une infime surface de leur territoire.

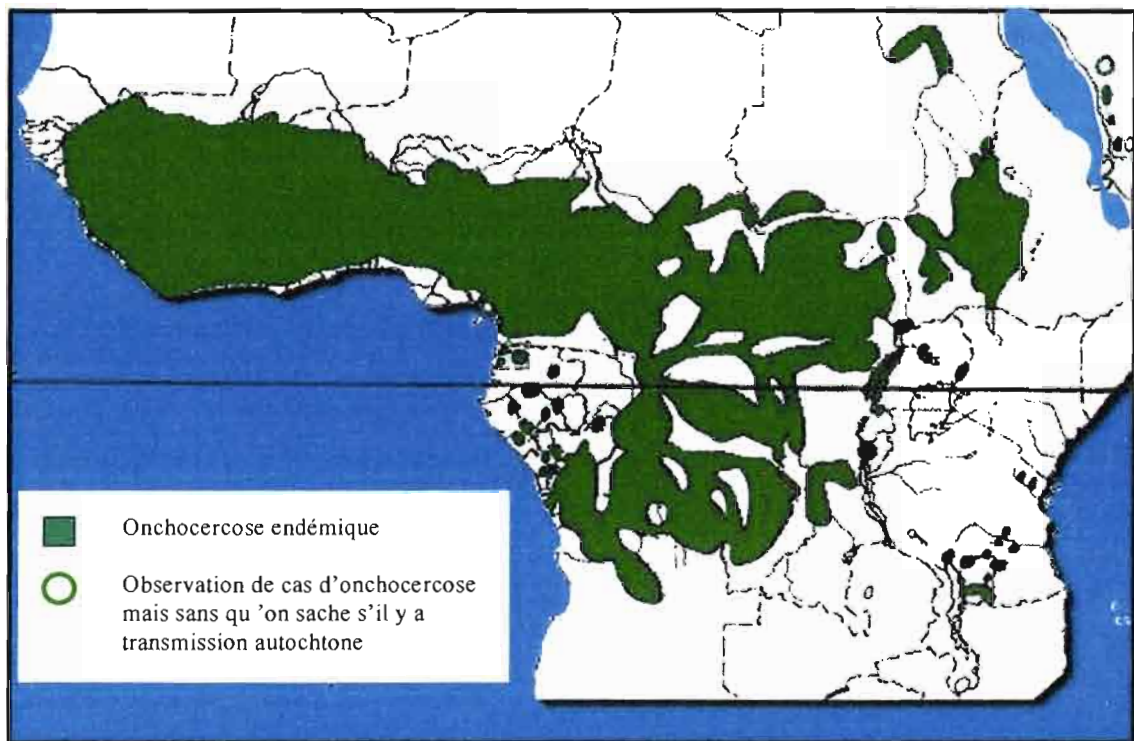


Figure 1 : Géorépartition de l'onchocercose en Afrique et dans la péninsule arabique
(D'après OMS, 1995 94910/F, modifié)

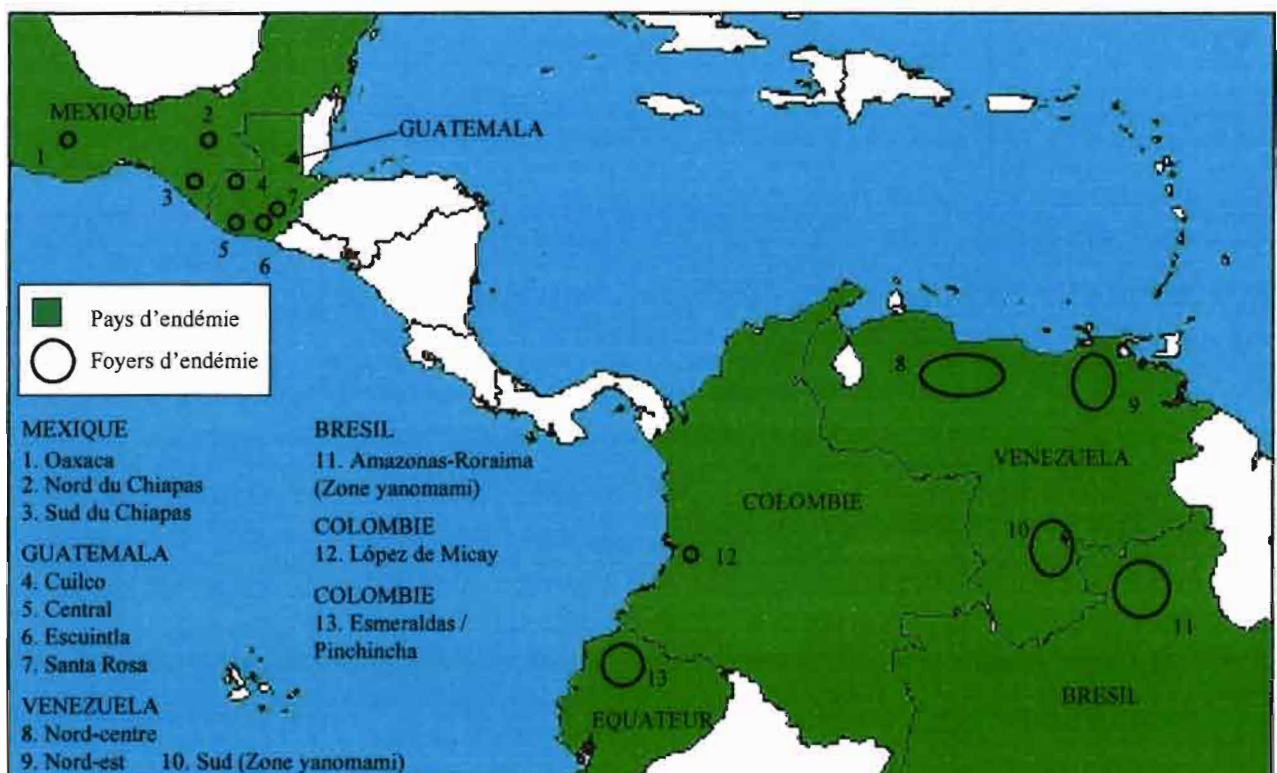


Figure 2 : Géorépartition de l'onchocercose dans les Amériques
(D'après OMS, 1995 94910/F, modifié)

CHAPITRE 2 : Les vecteurs et le parasite

2.1 Les vecteurs

2.1.1 Taxonomie et distribution des vecteurs

2.1.1.1 Position systématique

Embranchement :	<i>Arthropoda</i>
Classe :	<i>Insecta</i>
Ordre :	<i>Diptera</i>
Sous-ordre :	<i>Nematocera</i>
Famille :	<i>Simuliidae</i>
Sous-famille :	<i>Simuliinae</i>
Genre :	<i>Simulium</i>

Tableau 1 : Position systématique de *Simulium damnosum* (Crosskey, 1990)

Tous les vecteurs connus de l'onchocercose humaine sont des simulies, du genre *Simulium* Latreille (tableau 1) et on ne connaît pas de foyer de transmission onchocerquienne dont elles sont absentes. La famille compte environ 1550 espèces, réparties dans le monde entier. Cependant les principales espèces vectrices sont, sur le continent africain : *S. damnosum* (répandu dans toute l'Afrique intertropicale), *S. neavei* (présent seulement en Afrique orientale) et *S. albivirgulatum* trouvé seulement au Congo. En Amérique latine, les principales espèces vectrices sont : *S. ochraceum*, *S. metallicum* et *S. exiguum*. Toutes ces espèces sont en outre des complexes d'espèces jumelles (Anonyme, 1995).

2.1.1.2 Distribution des espèces de *Simulium damnosum* s.l. en Afrique de l'Ouest

Dans l'aire de l'OCP, la présence et la distribution des espèces du complexe *S. damnosum* s.l. sont associées à la diversité des zones bioclimatiques (météorologie, savanes ou forêts de divers types) et à certains facteurs tels que la topographie (relief), l'hydrographie (taille, régime, profil longitudinal plus ou moins accidenté, complexité du lit, etc....) qui déterminent pour chaque espèce des biotopes plus ou moins spécifiques auxquels

elle peut s'adapter de façon transitoire ou permanente (Tableau 2).

Sous complexes	Espèces et formes	Groupe
<i>S. damnosum</i>	<i>S. damnosum</i> s.s. *	Groupe de savane
	<i>S. sirbanum</i> *	
	<i>S. dieguerense</i>	
<i>S. sanctipauli</i>	<i>S. sanctipauli</i> forme type	Groupe de forêt
	<i>S. sanctipauli</i> forme "Djodji"	
	<i>S. leonense</i> *	
	<i>S. soubrense</i> forme type	
	<i>S. soubrense</i> forme "Beffa"	
	<i>S. soubrense</i> forme "Milo"	
	<i>S. konkourense</i> forme "Konkouré"	
<i>S. squamosum</i>	<i>S. konkourense</i> forme "Menankaya"	
	<i>S. squamosum</i> *	
	<i>S. yahense</i> *	

* Vecteurs efficaces

Tableau 2 : Sous-complexes, espèces, formes et groupes du complexe *S. damnosum* s.l.

Ainsi, 13 espèces et formes du complexe *S. damnosum* sont impliquées dans la transmission d'*O. volvulus*, dans l'aire de l'OCP à des degrés très divers, et seules cinq ou six ont un rôle vecteur important sur de vastes zones. On distingue un groupe d'« espèces savaniques » généralement dominantes dans les zones de savane et de pré-Sahel, et un groupe d'« espèces forestières », généralement abondantes dans les régions de forêt primaire ou secondaire, de forêt dégradée ou de mosaïques forêt / savane, les secteurs pré-forestiers et les savanes de basses latitudes. Les vecteurs majeurs en savane sont *S. sirbanum* et *S. damnosum sensu stricto* ; la première domine dans les régions les plus septentrionales des savanes soudaniennes, tandis que la seconde peut se rencontrer dans des biotopes à couvert forestier où elle s'est parfois adaptée saisonnièrement ou de manière pérenne. En forêt, les vecteurs efficaces sont *S. yahense*, *S. squamosum*, et *S. leonense*. Cette dernière espèce est uniquement rencontrée dans le sud de la Sierra Leone.

Malgré la grande diversité des espèces simulidiennes, leurs caractéristiques biologiques apparaissent relativement homogènes et constantes.

2.1.2 Biologie de *Simulium damnosum* s.l.

2.1.2.1 Cycle de vie de *Simulium damnosum* s.l.

Le cycle de vie des simuliés compte quatre stades de développement successifs : l'œuf, la larve, la nymphe, qui sont des stades aquatiques et l'adulte (figure 3). La durée de chacun des stades varie avec l'espèce et les conditions climatiques.

Chez *Simulium damnosum* s.l. la femelle pond ses œufs sur un support végétal ou rocheux qui affleure à la surface du courant. Les œufs au nombre de plusieurs centaines restent fixés à ce support en une masse gluante sécrétée par la femelle au moment de la ponte. Ils éclosent en 36 à 48 heures et les jeunes larves se fixent immédiatement sur un support généralement situé dans les 30 centimètres sous la surface de l'eau. Elles peuvent occasionnellement se laisser dériver vers l'aval grâce à la sécrétion d'une soie fixée à un support et leur permettant de regagner celui-ci à contre courant.

Le développement larvaire comporte sept stades successifs et se déroule en huit à dix jours. La température de l'eau et le ratio entre la vitesse de courant et la quantité de particules alimentaires en suspension déterminent cette durée. La larve de septième stade se transforme en nymphe après avoir tissé autour d'elle un cocon de soie à l'architecture spécifique. Au cours de la vie nymphale, la similie ne se nourrit pas et reste immobile, fixée à son support. A l'issue de cette période, qui dure de deux à cinq jours, la nymphe donne naissance à un adulte ailé, mâle ou femelle. Dans la zone du Programme OCP, le passage de l'œuf à l'adulte dure 12 à 16 jours.

Les femelles sont inséminées peu après leur émergence par des mâles qui vivent en essaims au-dessus de la végétation proche des gîtes. Un seul accouplement se produit pendant toute la vie de la femelle. Celle-ci se met alors à la recherche d'un repas de jus sucré puis d'un repas sanguin sur un hôte humain ou animal (selon le comportement anthropophile ou zoophile de l'insecte et/ou la densité de ces hôtes dans le voisinage). Un seul repas sanguin est nécessaire et suffisant pour assurer la maturation d'une ponte. S'ensuit la phase de maturation des œufs qui dure plusieurs jours et est suivie de la recherche d'un lieu de ponte. En général 400 à 600 œufs sont pondus à la première ponte ; ce nombre diminue avec la taille de la femelle et à chacune des pontes suivantes. Les œufs poursuivront leur cycle de développement si les conditions environnementales sont favorables (température de l'eau, vitesse de courant et quantité de particules alimentaires en suspension adéquats).

La femelle de *S. damnosum s.l.* a une longévité maximale estimée à un mois, et peut effectuer en théorie jusqu'à six cycles gonotrophiques (ou trophogoniques) au cours de son existence. Elle peut donc transmettre des larves infectantes d'*O. volvulus* pendant deux à trois repas sanguins, en savane certainement plus, cependant avec un maximum de cinq repas. Le développement de la filaire chez le vecteur dure en moyenne six à huit jours (cf. paragraphe 2.2.1.1).

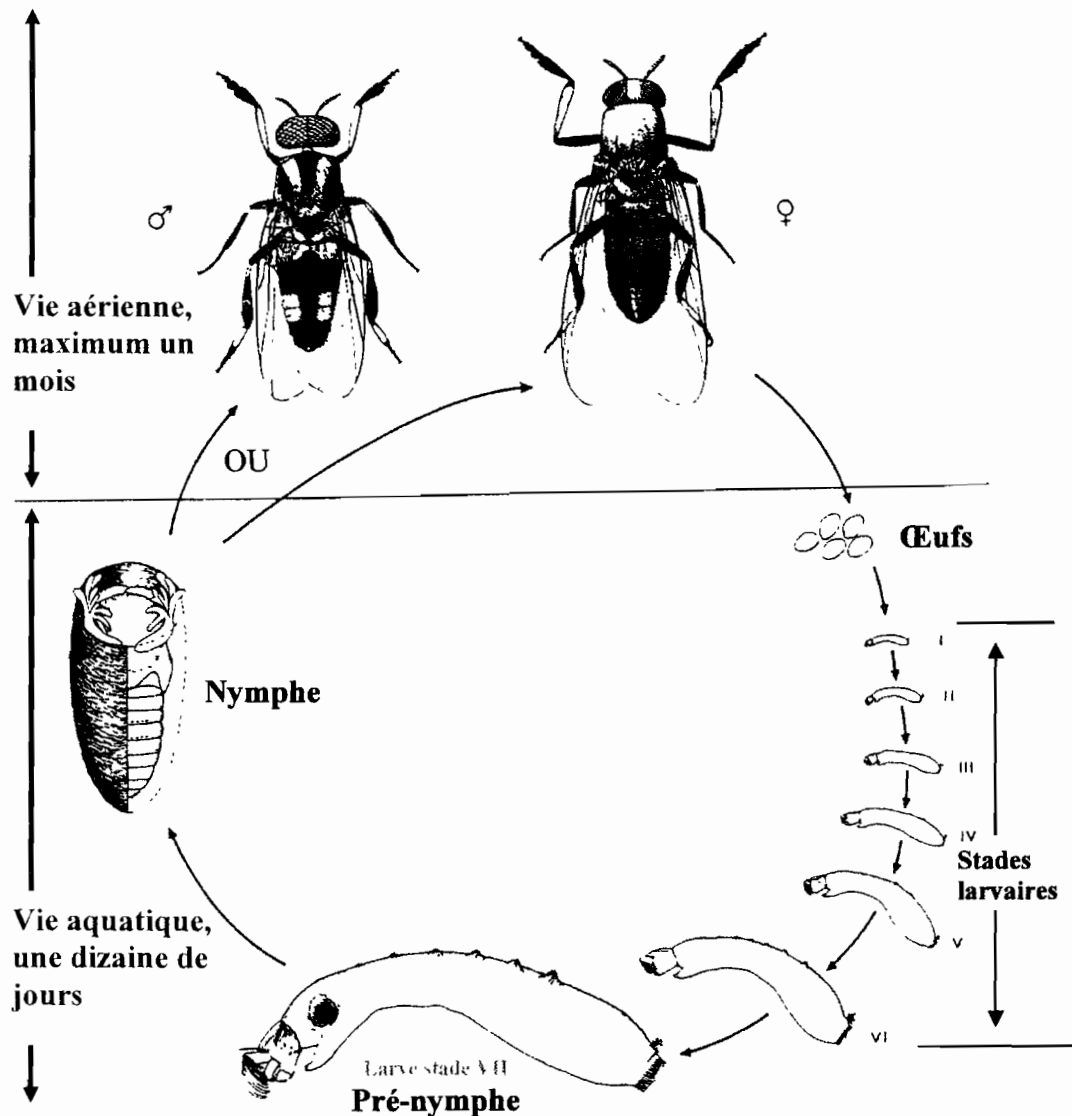


Figure 3 : Cycle vital de *Simulium damnosum s.l.* (d'après Crosskey, 1990)

2.1.2.2 Les déplacements des simules

On distingue schématiquement chez *S. damnosum* s.l. deux types différents de déplacements selon la distance parcourue à partir du lieu de reproduction de l'insecte : les déplacements de faible et de moyenne amplitudes, et ceux de grande amplitude.

Les déplacements de faible et moyenne amplitudes

Les déplacements actifs de faible amplitude sont motivés par la satisfaction d'un besoin physiologique de l'insecte. Il s'agit notamment de la recherche d'un repas de jus sucré (nectar des fleurs) ou d'un repas sanguin, ou de la recherche d'un lieu de repos ou de ponte. Dans ce type de déplacement, les femelles nullipares se dispersent plus et plus grand nombre que les femelles pares.

Les déplacements actifs de moyenne amplitude correspondent aux déplacements dispersifs. Ces déplacements peuvent atteindre plusieurs dizaines de kilomètres à partir des lieux de développement. L'amplitude de déplacement est conditionnée par des facteurs propres à l'insecte, mais aussi des facteurs qui lui sont extrinsèques. Selon Le Berre (1966), chez l'adulte de *S. damnosum*, les facteurs qui déterminent le déplacement, et qui lui sont propres sont : la puissance et la rapidité de vol, l'âge physiologique etc. Tandis que la climatologie, la météorologie (nébulosité, température, humidité) et les types de couvert végétal sont les déterminants et les modulateurs extrinsèques de ses déplacements.

En analysant la dispersion des femelles par la combinaison des facteurs climatiques (saison des pluies et saison sèche) et de la zone bioclimatique, Le Berre (1966), définit deux types de dispersion : la dispersion radiaire et la dispersion linéaire (figure 4). La première se produit dans toutes les directions à partir des gîtes ; la capacité de vol est le facteur limitant lorsque les autres conditions sont remplies (couvert végétal ou nuageux, chacun suffisant à lui seul). La seconde se produit uniquement le long des cours d'eau à partir des gîtes ; le facteur influant est dans ce cas le couvert végétal, qui s'il est dense et continu protègent les femelles du rayonnement solaire et autorise leurs déplacements (cas des forêts ou des galeries forestières). Des valeurs élevées de nébulosité et d'hygrométrie favorisent en outre aussi les déplacements.

Les déplacements de grande amplitude

Les déplacements de grande amplitude chez *Simulium damnosum s.l* en Afrique de l'Ouest relèvent du type migratoire. Ils peuvent atteindre quelques centaines de kilomètres à partir des lieux de développement, sans doute en altitude avec l'assistance des vents saisonniers. Ces vols peuvent être considérés comme actifs dans une certaine mesure, car la femelle bat des ailes durant ces vols. On distingue ainsi deux types de migration simuliennienne en Afrique occidentale :

- En début de saison des pluies, il y a une corrélation entre la montée vers le nord du front inter-tropical de mousson (FIT) et le repeuplement simulidien des foyers temporaires très septentrionaux, à partir des foyers permanents plus méridionaux (Ovazza et al., 1965 ; Philippon & Balay, 1967). Ce déplacement saisonnier des simules, dans le sens sud-ouest / nord-est, est devenu très apparent et préoccupant dès les premiers traitements antivectoriels de plusieurs foyers de la bordure méridionale de la zone initiale d'OCP et a été dès lors désigné sous le nom de ré-invasion, figure 5, (Walsh 1977 ; Garms 1979)
- Pendant la saison sèche, l'harmattan (vent sec soufflant du nord-est au sud-ouest) peut aussi être à l'origine du transport de simules (Baker, 1990 ; Bissan, 1995). Cette migration nord-est / sud-ouest, nommée « ré-invasion inverse », semble de moindre amplitude et plus localisée, car les gros réservoirs simuliens assez productifs en saison d'harmattan sont pour la plupart situés en zone de basses latitudes.

Les déplacements des simules vers le nord-est avaient pour conséquence une ré-infestation des zones d'OCP où la lutte anti-vectorielle avait pourtant été efficace (Le Berre et al., 1979). En effet, les femelles des principales espèces migrantes, *S. damnosum s.s.* et *S. sirbanum* (Garms et al. 1979), étaient capturées dans l'aire du Programme à l'état gravide et montraient des taux de parturité et d'infectivité très élevés incompatibles avec une production locale (Bellec & Hébrard, 1984 ; Le Berre et al., 1979). Cette introduction de parasites par les simules migrantes risquait de réactiver des foyers assainies ou des foyers résiduels de transmission en voie d'extinction. Pour neutraliser ce phénomène et pour assurer une couverture effective de l'aire de distribution de l'onchocercose cécitante, des extensions territoriales ont été successivement mises en place avec le double objectif de protéger l'aire initiale assainie et de lutter contre l'onchocercose dans les aires d'extension.

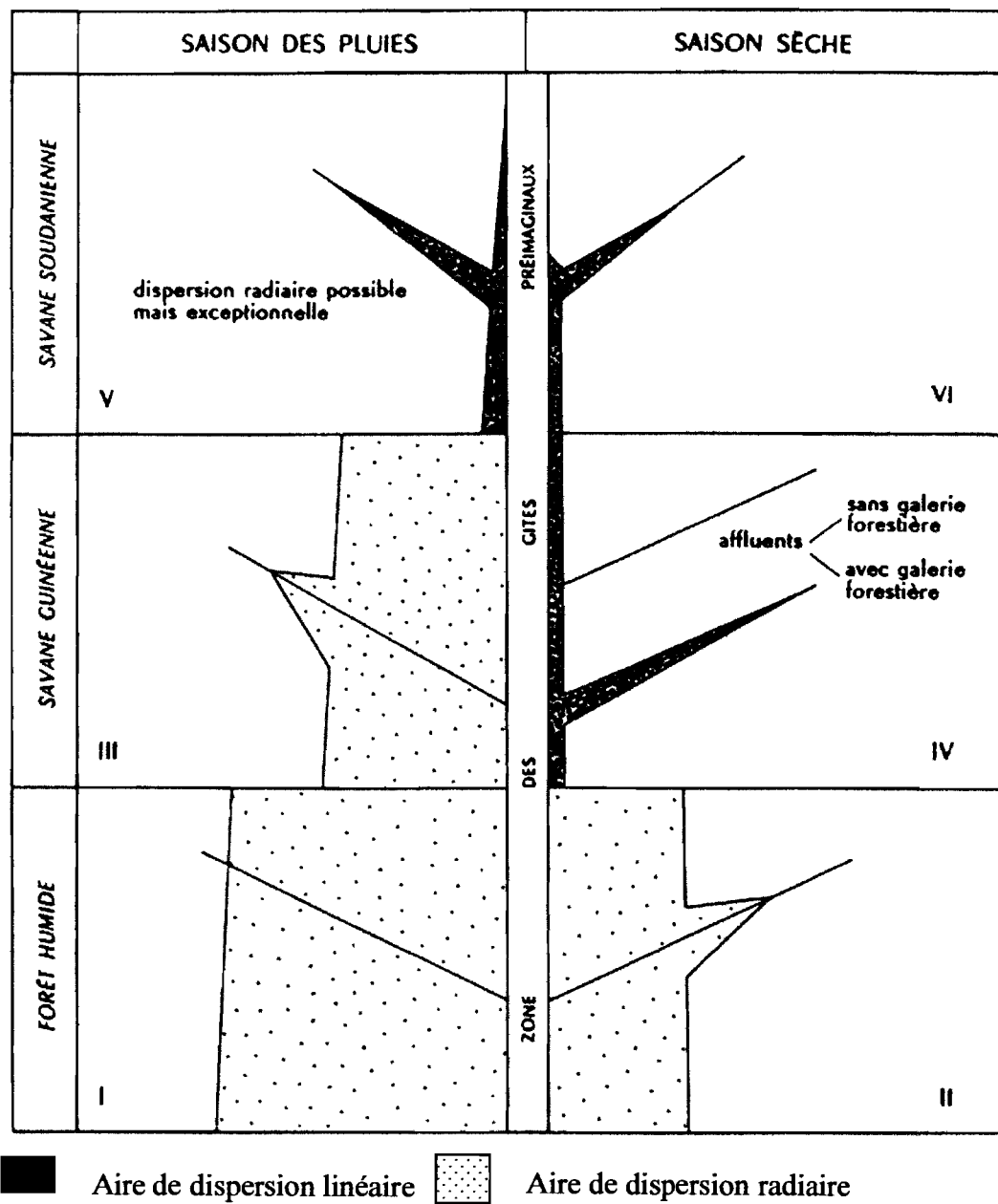


Figure 4 : Variation de l'aire de dispersion des femelles de *S. damnosum s.l.* en fonction de la zone bioclimatique et de la saison. (Le Berre, 1966)

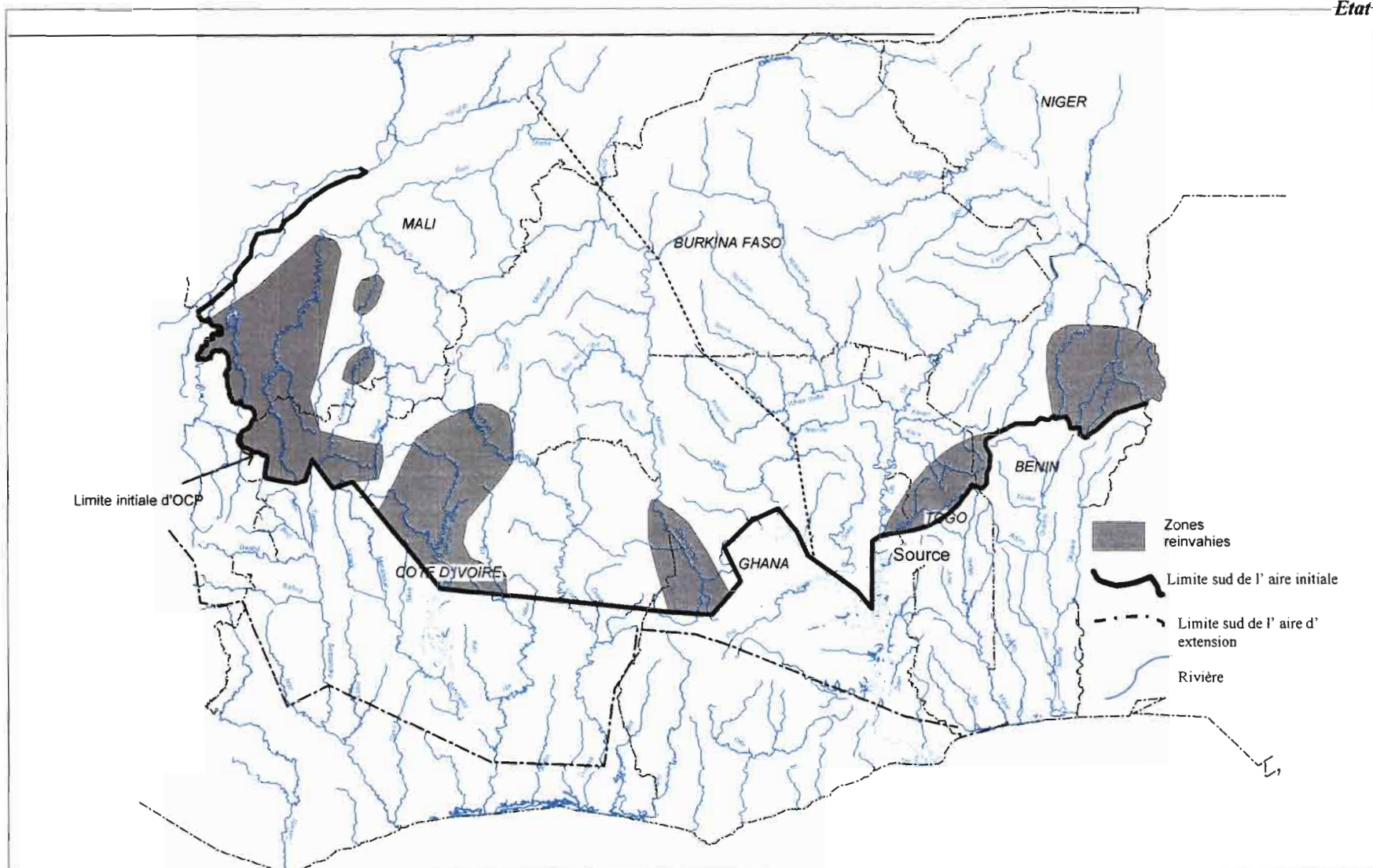


Figure 5 : Aires de réinvasions de l' OCP (source : OCP)

2.2 Le parasite

2.2.1 Cycle de développement du parasite

Le cycle de développement d'*O. volvulus*, se déroule chez deux hôtes : l'homme, hôte définitif, où se déroule la phase sexuée du cycle et la simule, hôte intermédiaire (figure 6). La filaire n'a pas de réservoir animal, bien qu'elle ait pu être transmise expérimentalement au chimpanzé (Duke, 1980). L'homme héberge la forme adulte du parasite.

2.2.1.1 Chez la simule

Chez la simule, seule la femelle pique et ingère des microfilaires, lors du repas de sang qui lui fournit les protéines nécessaires à la maturation de ses œufs. L'ingestion du sang provoque la formation, par les cellules digestives de la simule, d'une « matrice » péritrophique qui sépare rapidement la masse sanguine de la paroi de l'estomac. La plupart des microfilaires ingérées sont emprisonnées dans cette membrane, mais certaines d'entre elles, traversant assez précocement la paroi stomacale pourront poursuivre le cycle parasitaire (Bain & Philippon, 1969). Elles gagnent alors la cavité générale et les muscles thoraciques où elles s'épaississent progressivement et donnent naissance au premier stade larvaire (L1). Deux mues successives produisent un deuxième stade (L2) puis un troisième stade larvaire (L3). Ce dernier s'allonge pour prendre l'aspect définitif de larve infestante de longueur moyenne de 650µm (Bain, 1969). Cette larve, très mobile, se déplace activement dans la cavité générale de tout le corps de l'insecte, mais gagne préférentiellement la tête et les pièces buccales. La durée moyenne de la maturation des larves chez la simule est de six à huit jours.

2.2.1.2 Chez l'homme

Lors d'un nouveau repas sanguin, les larves infestantes présentes dans les pièces buccales de la simule pénètrent activement le revêtement cutané au point de piqure. Ces larves qui sont potentiellement sexuées, évolueront chez l'hôte humain en adultes mâles ou femelles (Prost, 1980). Chez le ver adulte, le dimorphisme sexuel est marqué. La longueur

des femelles pelotonnées dans les nodules varie de 50 à 70 centimètres alors que celle des mâles n'excède pas 5 centimètres.

Les femelles adultes fécondées donnent naissance par viviparité aux microfilaires. Elles en émettent de 50 000 à 1 million pendant toute leur vie féconde, dont la durée est estimée à 9-14 ans (Anonyme, 1995). Les microfilaires ne poursuivront leur développement qu'après avoir été ingérées par des simules, seuls vecteurs connus d'*O. volvulus*. Leur durée de vie varie de 6 à 24 mois chez l'homme (Anonyme, 1995), et elles sont responsables de la plupart des manifestations cliniques de l'onchocercose.

2.2.2. Relation entre durée du cycle parasitaire et durée du cycle gonotrophique

La durée du cycle de développement d'*O. volvulus* chez la simule et celle du cycle gonotrophique, permettent de définir la notion d'âge épidémiologiquement dangereux de ce vecteur. C'est l'âge auquel le vecteur peut transmettre le parasite pour la première fois, s'il s'est infesté au cours de son premier repas sanguin. Chez la femelle de *S. damnosum s.l.*, le temps qui sépare les deux premiers repas est de trois à quatre jours, un peu plus entre les suivants (quatre à six jours environ). La durée moyenne de maturation des larves chez ce vecteur est de six à huit jours (durée supérieure à l'intervalle entre deux repas sanguins). Si la femelle s'est infestée lors de son premier repas sanguin, au prochain repas les larves d'*O. volvulus* seront à leur premier ou second stade de développement, incapables d'être retransmises ; une femelle qui s'est infestée à son premier repas ne pourra donc retransmettre les larves infectantes d'*O. volvulus* qu'à partir de son troisième repas.

2.2.3. Polymorphisme parasitaire

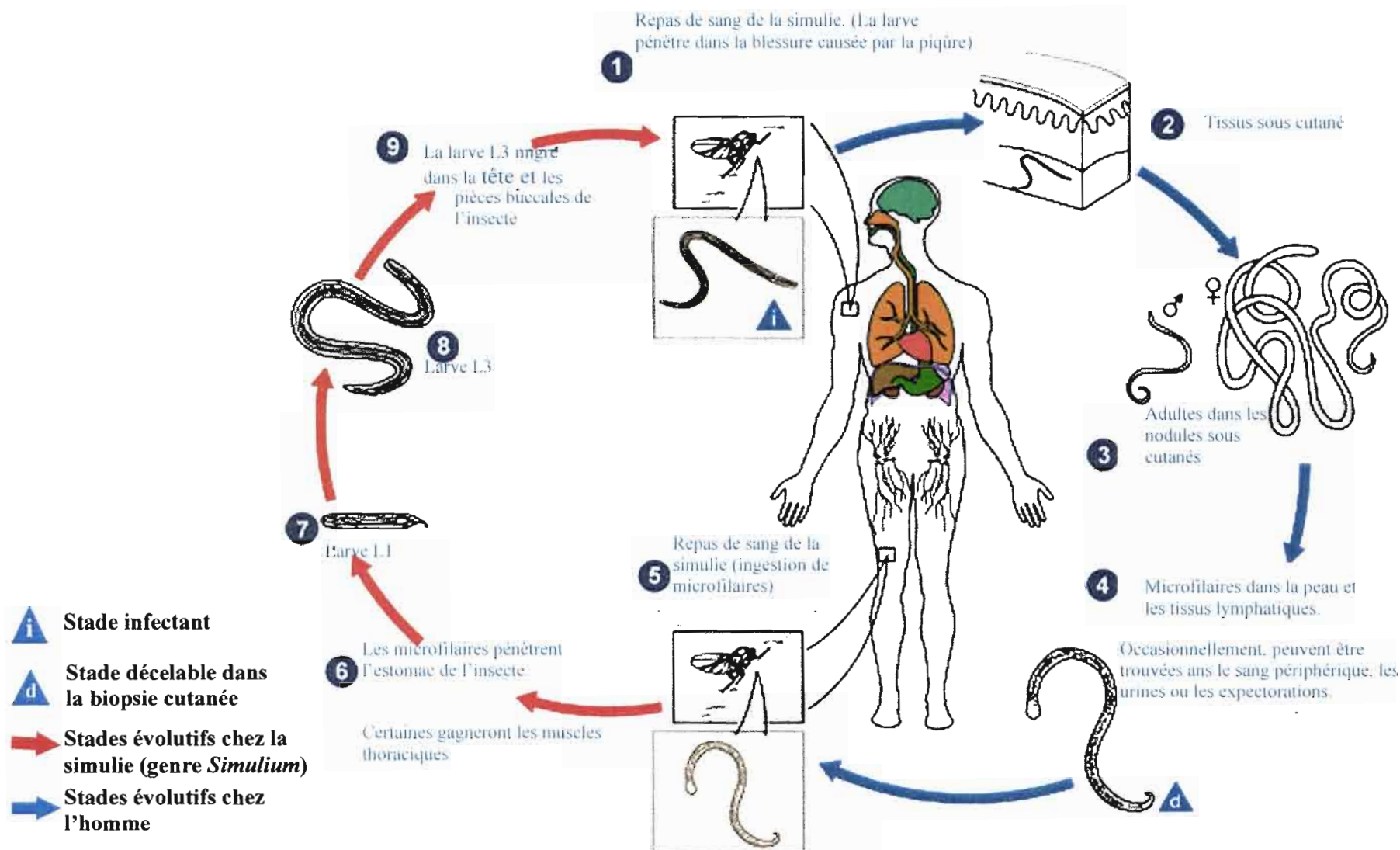
La possibilité de dualité voire de la pluralité d'*O. volvulus* a été subodorée par des études portant sur la capacité vectorielle de *S. damnosum s.l.* (Duke et al., 1966 ; Philippon, 1977 ; Quillévéré, 1979). Les compatibilités vecteurs / parasites ont été étudiées par une série d'expérimentations qui a consisté à observer le cycle parasitaire chez des vecteurs de forêt ayant prélevé des parasites de savane et vice versa, ainsi que le développement des parasites issus des foyers africains chez des vecteurs d'Amérique et vice versa. Ces résultats indiquent que les parasites d'une zone géographique donnée ont une plus grande capacité à se développer chez les vecteurs locaux que les parasites issues d'autres régions bioclimatiques et / ou géographiques. D'où l'hypothèse de l'existence de caractères,

spécifiques à chacune des populations parasites issues des différentes zones géographiques, qui reflètent le degré d'adaptation vecteur / parasite. (Duke et al., 1966). Par ailleurs, des infestations expérimentales dans l'œil de lapin, ont montré que les populations parasites de savane étaient plus pathogènes que celles de forêt (Duke & Anderson, 1972).

Des travaux ont été ensuite menés dans le domaine de la biochimie pour étudier l'hétérogénéité de ces populations parasites. Ainsi, l'analyse d'isoenzymes telles que la lactate déshydrogénase, la mannose phosphate isomérase et l'hydroxybuterate déshydrogénase chez *O. volvulus*, ont permis la différenciation des souches de savane et de forêt (Cianchi et al., 1985 ; Hilary et al., 1986).

Afin de mieux comprendre le polymorphisme observé au sein des populations d'*O. volvulus*, les recherches se sont poursuivies dans le domaine de la génétique moléculaire, pour la mise au point de sondes d'ADN. L'utilisation de séquences d'ADN pour l'identification des espèces offre plusieurs avantages. Premièrement, les séquences d'ADN présentent la particularité d'être totalement objectives, contrairement aux autres caractères (morphologie, enzyme etc.) dont l'expression phénotypique est la résultante de facteurs génétiques mais aussi de divers facteurs épigénétiques (Hills, 1987). Deuxièmement, en travaillant sur l'ADN, on se rapproche autant que possible des fondements à la base de la diversité des espèces, d'où la possibilité de séparer au niveau subsppécifique des souches ou des formes (Dover, 1982).

Chez le genre *Onchocerca* sp., l'étude d'une famille de séquences non codantes, hautement répétées et disposées en tandem dénommées « O-150 », a permis une meilleure connaissance du genre. Les mécanismes de l'évolution concertée ont défini au sein de cette famille de séquences, des variantes qui apparaissent spécifiques à des groupes d'individus (Unnasch & Zimmerman, 1995). Ces variations ont été mises à profit pour caractériser des variants génétiquement distincts chez *Onchocerca volvulus* (ceux de savane d'une part et de forêt d'autre part) et de développer des sondes d'ADN permettant leur identification précise (Perler & Karam, 1986 ; Shah et al., 1987). Des travaux ont montré que la distribution géographique de ces deux formes génétiques du parasite était bien corrélée au faciès épidémiologique de la maladie (Zimmermann et al., 1992).

Figure 6 : Cycle de développement d'*Onchocerca volvulus* (d'après CDC, modifié)

CHAPITRE 3 : L'épidémiologie de l'onchocercose

3.1 Description générale des aires d'endémicité

Dans tous les foyers ou les aires géographiques où elle sévit en Afrique et en Amérique, l'endémie onchocerquienne présente à quelques exceptions près les mêmes caractéristiques épidémiologiques. L'onchocercose est une maladie par accumulation. Cela est dû à la longévité des vers adultes (9 à 14 ans) et des microfilaires (6 à 24 mois), aux infections successives et à la faible réaction immunitaire. L'onchocercose se présente ainsi, comme une maladie de sommation dont, en savane, la gravité est dans une large mesure proportionnelle au degré d'infestation (charge microfilarienne), donc d'exposition des individus à l'agent pathogène, et donc à la densité des simuliid vectrices ; cela explique son appellation, justifiée en savane, de « cécité des rivières » puisque les lésions oculaires graves, manifestations cliniques les plus avancées, frappent significativement plus les villages riverains.

On observe une focalisation des foyers plus ou moins marquée. Elle est nette autour des gîtes simuliidiens, de part et d'autre des rives des cours d'eau. Cette focalisation peut s'étendre sur quelques centaines de mètres ou sur des kilomètres en profondeur, suivant l'importance des gîtes larvaires et les faciès bioclimatiques.

La zone d'endémicité affecte souvent une disposition en "manchons" autour des cours d'eau. Certains foyers sont isolés, séparés les uns des autres, cas fréquent des foyers d'Amérique tropicale et d'Afrique de l'Est. En Afrique de l'Ouest, l'endémie onchocerquienne se présente sous la forme d'une mosaïque de foyers différents par leur étendue et leur gravité, tantôt contigus, tantôt séparés les uns des autres. La distribution des foyers est très dépendante des types de réseaux hydrographiques et des espèces vectrices qui les peuplent : exemples des chevelus de petites rivières de régions forestières accidentées peuplées par *S. yahense* et *S. squamosum*, tandis que les grandes rivières sont colonisées en forêt et en savane par *S. sanctipauli*/*S. soubrense* et *S. damnosum s.s.*/*S. sirbanum* respectivement.

3.2 Les modulateurs de l'épidémiologie onchocerquienne

Les facteurs qui modulent l'épidémiologie de cette endémie dans une même zone bioclimatique et dans un foyer, sont ceux qui influent sur les variations de l'intensité de

transmission. En Afrique de l'ouest, ces facteurs peuvent être classés en plusieurs catégories, relevant à la fois du vecteur, de l'homme et du parasite.

Les facteurs vectoriels influent sur les quantités de parasites qui peuvent être transmises. La longévité moyenne des femelles de *S. damnosum s.l.* joue un rôle déterminant car d'elle dépend la proportion de femelles atteignant l'âge épidémiologiquement dangereux (paragraphe 2.2.2). Il a été observé qu'à partir d'effectifs égaux de femelles le jour de l'éclosion, cette proportion serait 50 fois plus élevée en savane qu'en forêt du fait de l'espérance de vie plus longue dans la première zone. L'intensité de la transmission (à l'intérieur d'une même zone et avec de mêmes espèces vectrices) est aussi proportionnelle à l'abondance du vecteur, qui est fonction des conditions hydrologiques (variables selon les saisons), lesquelles déterminent le nombre et la productivité des gîtes larvaires de simules. Les déplacements des femelles sont aussi un facteur important car dans un même foyer, la quantité de transmission varie dans le temps et dans l'espace en fonction des variations saisonnières de la dispersion des femelles. Cette quantité est en effet proportionnelle à la proximité du gîte, la densité des femelles diminuant avec l'éloignement de celui-ci. Cela explique que l'endémicité décroisse quand la distance aux gîtes augmente.

Les facteurs liés à l'homme concernent principalement le mode d'occupation et d'exploitation de l'espace, essentiellement pour l'agriculture (densité de peuplement, implantation et type d'habitat, localisation des champs, saisonnalité des travaux agricoles, habitudes culturelles ou pastorales, etc.), qui déterminent le degré d'exposition aux vecteurs. En zone de savane, les villages ont été classés en trois catégories dites de première, deuxième et troisième lignes, en fonction de la distance entre la communauté et les lignes de gîtes de *S. damnosum s.l.* (Rolland & Balay, 1969), et de la présence ou l'absence d'autres établissements humains entre les deux. L'intensité de l'exposition à la transmission décroît des villages de première ligne à ceux de troisième ligne. Ainsi, la prévalence et l'intensité de la microfilariose, et la fréquence des nodules, de l'infection et des lésions oculaires et des cécités onchocercariennes diminuent lorsque l'éloignement des gîtes du vecteur augmente (Philippon, 1977). D'autre part, dans une même zone bioclimatique, cette intensité est inversement proportionnelle à l'importance numérique de la communauté humaine exposée, car la densité de peuplement « dilue » le nombre de piqûres. Par ailleurs certaines activités comme la pêche, l'orpaillage, la batellerie (passeurs) favorisent un contact plus

étroit avec les populations vectrices. Enfin, il pourrait exister des facteurs immuno-génétiques qui conditionnent chez l'hôte, l'expression clinique de l'onchocercose (Meyer et al., 1994 ; Donfack et al., 1999).

Parmi les facteurs liés au parasite, l'existence de variants (ou souches parasitaires) génétiquement distincts d'*O. volvulus*, joueraient un rôle de premier plan dans l'étiologie de la pathologie onchocerquienne, en particulier oculaire, cécitante ou non cécitante, (cf. paragraphe 2.2.3).

3.3 Epidémiologie locale

3.3.1 Dualité des onchocercoses de forêt et de savane

En dehors des aspects généraux de l'épidémiologie onchocerquienne précédemment évoqués, des variations cliniques de l'onchocercose ont été mises en évidence entre savane et forêt (Budden, 1963 ; Remme et al., 1989 ; Dadzie et al., 1989 & 1990). En Afrique de l'ouest, les terminologies « savane » et « forêt » ont été adoptées pour désigner ces types épidémiologiques généraux de l'onchocercose.

En Afrique de l'Ouest, le type épidémiologique dit de savane sévit entre les 8° et 15° parallèles nord (Philippon, 1978), ce dernier constituant la limite septentrionale des écoulements suffisamment durables. Ils incluent des zones pré-sahéliennes au nord, divers types de zones de savanes et des mosaïques forêt-savane des secteurs pré-forestiers au sud. Les foyers sont bien individualisés. La maladie peut être grave et se traduire par des lésions oculaires précoces, avancées, hautement prévalentes et pouvant entraîner jusqu'à 10% de cécité dans certains villages d'hyperendémie de première ligne. L'absence de peuplement riverain des vallées les plus infestées ne se rencontre que dans ces foyers.

Le type épidémiologique dit de forêt concerne une bande de territoire schématiquement située entre 8° nord (pour sa limite nord) et l'Océan Atlantique (pour sa limite sud. Dans le type de forêt, la prévalence des nodules onchocerquiens et les densités microfilariennes sont relativement plus importantes (pour un même niveau de transmission ou d'infection) (Prod'hon, 1988) de même que les fréquences des lésions de dépigmentation et des manifestations adéno-lymphatiques. Cependant, les manifestations oculaires, pour des

prévalences comparables, sont globalement beaucoup moins graves ; les lésions oculaires sont tardives, moins fréquentes, l'étiologie des lésions les plus sévères est différente (lésions postérieures dominantes) et les cécités d'origine onchocercienne sont rares (Prost, 1980) (Anonyme, 1995). Toutefois, il existe des exceptions à cette répartition biogéographique des faciès cliniques de l'onchocercose, comme en Sierra Leone où l'onchocercose peut être cécitante dans certaines zones de forêt (Dadzie et al., 1992).

3.3.2 Relation entre la gravité de la maladie et la répartition des vecteurs

L'onchocercose grave de savane, au dessus du 9^{ème} parallèle, était quasi exclusivement associée à *S. damnosum s.s.* et *S. sirbanum* (Philippon, 1977). La limite méridionale de *S. damnosum s.s.* déborde largement la zone de savane et pénètre dans la forêt le long des grands cours d'eau.

L'onchocercose forestière des petites rivières de forêt (relativement bénigne) est associée à *S. yahense*, et dans une certaine mesure à *S. squamosum*. Avant OCP, *S. squamosum* a été rencontrée à des latitudes relativement élevées de savane guinéenne infestées d'onchocercose grave. Toutefois, son implication dans la transmission dans ces foyers n'a pas été établie. Cette espèce apparaît ainsi plus ubiquiste.

Le sous-complexe *S. sanctipauli* est forestier (biotopes de forêts denses et forêts claires humides) mais *S. soubrense ss* pénètre par endroit en savane jusqu'au 10^{ème} parallèle nord. Parmi les espèces de ce sous complexe, *S. soubrense* et *S. sanctipauli* ont été trouvées infectées dans des zones de savane où l'onchocercose présentait un haut degré de gravité (Traoré & Hébrard, 1983 ; Walsh, 1984). Comme précédemment, les conséquences épidémiologiques de la présence de ces vecteurs dans ces zones n'ont pas encore été étudiées.

S. leonense, espèce forestière du complexe *sanctipauli* inféodée aux grands cours d'eau, est présente dans les régions de forêt dégradée du sud de la Sierra Leone, où le faciès clinique apparaît intermédiaire, avec une intensité de l'infection et des taux de cécité relativement élevés (jusqu'à 6%) (McMahon 1988a, 1988b ; Dadzie 1992).

CHAPITRE 4 : LA LUTTE CONTRE LA MALADIE

4.1 Le programme OCP

4.1.1 Origine et mise en place

La genèse de l'OCP remonte aux premières campagnes anti-simulidiennes en Afrique de l'Ouest. Lancée en 1960, la première campagne de lutte contre les vecteurs de l'onchocercose sur le haut bassin de la Volta Noire, est le fruit de la création dès 1956, d'une Section Onchocercose à Bobo Dioulasso (Haute Volta, devenu Burkina Faso) par un entomologiste médical de l'ORSTOM¹ (Max Ovazza) et le directeur du SGHMP² (Pierre Richet). Cette première campagne a été précédée, de 1956 à 1960, d'une phase de reconnaissance des gîtes larvaires, de recherche sur la bio-écologie du vecteur et de préparation logistique. De 1960 à 1966, la campagne a utilisé un larvicide, le dichlorodiphényl-trichloréthane (DDT). A partir de 1966, cette campagne financée par le FIDES³ et le FAC⁴ fut relayée par celles menées par l'OCCGE⁵ (qui avait succédé au SGHMP aux indépendances) et l'ORSTOM avec l'appui financier du Fonds Européen de Développement (FED). Concernant les trois foyers contigus de Banfora (Haute Volta), Korhogo (Côte d'Ivoire) et Sikasso (Mali), elles couvraient une superficie de 50 000 km² (Philippon & Sékétéli, 1998). Ces campagnes ont permis de préciser la répartition et l'importance des gîtes, les aspects quantitatifs de la transmission onchocerquienne, l'écologie du vecteur, les modalités d'application des larvicides en fonction des caractéristiques hydrographiques des cours d'eaux. Elles mirent en évidence l'efficacité du DDT sur les larves de simules mais aussi les effets délétères de ce produit sur la faune et la flore aquatique non cible. Ces campagnes ont enfin fourni la preuve qu'il était possible de contrôler les populations de vecteur et la transmission de l'onchocercose.

Fort de ces enseignements et consciente des graves répercussions sanitaires et socio-économiques de l'onchocercose, la communauté scientifique internationale réunie à Tunis en 1968, a réfléchi sur la faisabilité et les aspects opérationnels d'un programme de

¹ Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (actuellement, Institut de Recherche pour le Développement, IRD).

² Service Général d'hygiène Mobile et de Prophylaxie (couvrant l'Afrique occidentale francophone)

³ Finances pour le Développement Economique et Social

⁴ Fond d'Aide et de Coopération

⁵ Organisation de coopération et de coordination pour la lutte contre les grandes endémies.

lutte à grande échelle. L'idée d'une opération de plus grande envergure s'affirmera alors au cours des années pour aboutir à l'élaboration puis à la mise en œuvre en 1974, du programme OCP. Ce programme planifié pour 20 ans sera actif jusqu'en 2002. Il intéressera à ses débuts sept états de l'Afrique de l'Ouest (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Ghana, Mali, Niger, Togo), couvrant ainsi une superficie de 654 000 km² pour une population estimée à 10 millions de personnes (cf. illustration 2 du chapitre « introduction »). L'aire initiale du programme comptait alors plus d'un million d'individus atteints d'onchocercose, dont 100 000 présentaient de graves lésions oculaires ; parmi ceux-ci 35 000 étaient aveugles.

Jusqu'en 1989, cette aire initiale a été ré-envahie par des simules provenant des zones extérieures au programme. Pour endiguer ce phénomène, des extensions territoriales ont été mises en place au sud-ouest en Côte d'Ivoire en 1978-79, puis de 1986 à 1989, au sud-est au Ghana, au Togo, et au Bénin et à l'ouest au Mali, en Guinée Conakry, Guinée-Bissau, Sénégal et Sierra Leone. Le programme comprendra alors 11 Etats et couvrira une superficie totale de 1.235.000 km², pour une population d'environ 30 millions d'individus, dont 2,4 millions infectés et environ 100 000 aveugles ou patients souffrant de troubles visuels graves dus à l'onchocercose.

4.1.2 La stratégie de lutte contre le vecteur

4.1.2.1 Principe de base

En l'absence de thérapeutique efficace sans danger pour l'homme et facilement applicable à grande échelle en milieu rural africain, la seule stratégie utilisable pour un contrôle de l'onchocercose était une lutte anti-vectorielle. Cependant, à cause de la dispersion des simules adultes et de la dilution de leurs lieux de repos, les populations imaginaires étaient hors d'atteinte. la stratégie s'est donc fondée sur la destruction de *S. damnosum s.l.* sous ses formes larvaires, les plus vulnérables avec trois exigences :

- L'application de larvicides obligatoirement sélectifs et de préférence doit avoir sur la faune aquatique non cible un impact réversible, et minime à court, moyen et long termes.

- La superficie traitée doit être suffisante pour limiter les réinvasions par des vecteurs issus de gîtes non traités situés hors de l'aire du programme.
- L'interruption de la transmission doit se poursuivre pendant une durée supérieure à la durée de vie maximale du parasite afin d'obtenir l'extinction du réservoir parasitaire chez l'homme.

La longévité maximale du ver adulte avait été estimée à environ 18 ans en fonction des connaissances disponibles avant le lancement du Programme (Roberts et al., 1967). Sur cette base, les opérations de lutte anti-vectorielle ont donc été initialement planifiées pour 20 ans. Par la suite, l'utilisation du modèle épidémiologique de transmission de l'onchocercose "ONCHOSIM", alimenté par les données du terrain, a conduit à estimer la durée de vie du ver adulte à 12 ans (Habbema, 1992). Par conséquent, la durée minimale théorique des opérations de lutte anti-vectorielle sur un bassin fluvial a été ramenée à 14 ans.

4.1.2.2 Aspects opérationnels

Les conditions restrictives d'installation et de maintien d'un gîte pré-imaginal de *S. damnosum s.l.* font que ces gîtes couvrent une superficie assez caractérisée et circonscrite dans l'espace. Il a donc été possible de répertorier avec précision, dans une zone donnée, tous les gîtes larvaires aux différentes périodes de l'année, pour appliquer au bon endroit et à point nommé des larvicides sélectifs et sélectionnés, appropriés aux conditions hydrologiques et hydrobiologiques, et dosés de telle manière qu'ils puissent détruire de manière exhaustive et spécifique toutes les populations larvaires de l'espèce.

Les épandages larvicides ont été réalisés soit par des avions pour le traitement des cours d'eau larges et dégagés, soit par des hélicoptères pour le traitement des rivières plus étroites ou plus accidentées, soit par voie terrestre dans les endroits isolés à débit moins élevé (Hougard et al., 1996). L'aspersion de l'insecticide se faisait en amont de chaque gîte ou ligne de gîtes selon un rythme hebdomadaire, déterminé en fonction de la durée de vie des larves. En effet, les larvicides n'ayant aucun effet sur les œufs et les nymphes (ces dernières ne se nourrissent pas), il est impératif d'agir avant la dernière mue des larves.

Pour neutraliser la résistance des vecteurs, l'OCP a utilisé sept larvicides différents en rotation. Le produit de remplacement appartenait de préférence à une classe chimique

différente du précédent. Les sept larvicides utilisés se répartissent comme suit : trois organophosphorés (le téméphos, la phoxime et le pyraclofos), deux pyréthroïdes de synthèse (la perméthrine et l'étofenprox), un carbamate (le carbosulfan) et un insecticide biologique (*Bacillus thuringiensis* sérotype H-14, ou *B.t.* H-14). En plus du critère coût / efficacité, les insecticides ont été sélectionnés sur la base de leur biodégradabilité et de leur innocuité à court, moyen et long termes sur la faune non cible. Ainsi, le téméphos et le *B.t.* H-14, qui ont des effets minimes sur l'environnement, ont été utilisés sans restriction particulière (Hougard, 2000). Le pyraclofos étant toxique pour la faune non cible, dont les poissons, en cas de surdosage accidentel, ce produit a été proscrit sur des rivières ayant des débits inférieurs à 15 m³/s. La perméthrine et le carbosulfan ont été utilisés uniquement pour des débits supérieurs à 70 m³/s et, dans la mesure du possible, pendant moins de six semaines consécutives par an sur un même bief de rivière. Etant donné que l'étofenprox est moins toxique pour les poissons et crustacés que la perméthrine (Yaméogo, 2001), il n'y a aucune mesure restrictive quant au nombre annuel de ses cycles hebdomadaires d'utilisation (Hougard et al., 1993 ; Hougard, 2000).

4.1.2.3 L'évaluation entomologique

L'évaluation entomologique s'intéressait aux formes pré-imaginales de *S. damnosum* s.l. mais surtout aux populations de femelles piqueuses, pour estimer leur densité et leur potentiel de transmission par unité de temps (mois ou année).

Contrôle larvaire

L'examen périodique des gîtes donne une première indication de l'efficacité locale des traitements. Le degré de fiabilité de cette méthode est cependant relatif, et la quantification de l'effet est difficile ; si la présence de larves signifie un échec d'un traitement récent, et celle de nymphes d'un traitement plus ancien, leur absence n'est toutefois pas un signe d'efficacité, car le résultat est fonction de la densité des formes pré-imaginales et de la rigueur du contrôle. L'accent était donc surtout mis sur la caractérisation de populations résiduelles de femelles piqueuses.

Etude des populations de femelles de *S. damnosum s.l.*

Les femelles de *S. damnosum s.l.* étaient collectées par captures standardisées (méthode et durée journalière) sur appât humain, identifiées par des critères morphologiques, puis disséquées en vue de la détermination de leur âge physiologique et de leur taux d'infectivité (confère partie matériel et méthode). L'abondance des femelles par point et par séance de captures permet d'estimer le taux annuel de piqûres (TAP) (ou ABR, pour Annual Biting Rate en anglais) (Walsh et al., 1978). La dissection des femelles capturées permet de déterminer l'âge moyen des populations dans un foyer donné ; lorsqu'il est bas, c'est un bon indicateur de l'existence probable d'un gîte actif pré imaginal proche ; lorsqu'il est élevé il est signe probable soit de ré-invasion soit de population en extinction. La dissection permet également d'obtenir une évaluation correcte de l'intensité de transmission en chaque point de capture pendant une période déterminée par le calcul du potentiel de transmission. Deux indices sont utilisées le Potentiel Mensuel de Transmission (PMT) et le Potentiel Annuel de Transmission (PAT) (confère partie matériel et méthode).

On a pu ainsi observer qu'en savane, lorsque les PAT générés par la paire *S. damnosum s.s.* / *S. sirbanum* étaient supérieurs ou égaux à 1000, il existait une menace sur les communautés, dans leur existence même. Dans les situations où les PAT étaient inférieurs à 200, même si l'on pouvait observer des lésions oculaires graves, ces dernières se limitaient généralement au segment postérieur de l'œil nonobstant une prévalence de la maladie pouvant atteindre 60%. C'est pour garder une marge de sécurité sur les conditions d'occupation des terres protégées de l'onchocercose qu'il a été convenu qu'un PAT de 100 était le seuil de transmission tolérable dans les zones de savane du programme (Anonyme, 1977 ; Thylefors et al., 1978). En forêt, le seuil de tolérabilité du PAT reste à définir, car les manifestations cliniques et démographiques observées en savane ne se rencontrent pas en forêt.

En savane comme en forêt, l'identification précise du parasite se révèle nécessaire pour une bonne estimation des indices de transmission, car *S. damnosum* peut être porteur de larves d'onchocerques animales telles qu'*O. ochengi*, indifférenciables d'*O. volvulus* par leur morphologie larvaire.

Un avantage important des PAT et PMT (Potentiel Mensuel de Transmission) sur les indices parasitologiques et cliniques réside dans le fait qu'ils permettent d'évaluer rapidement l'efficacité larvicide des traitements et d'anticiper précocement sur l'impact de la lutte antivectorielle, car il faut attendre au moins deux années pour discerner l'effet des opérations sur les indicateurs parasito-cliniques de l'infection chez l'homme.

L'évaluation entomologique à OCP était assurée par un réseau de quelque 800 points de capture représentatifs des bassins hydrologiques de l'aire du Programme. Les résultats de la surveillance des gîtes larvaires et des captures et dissections des femelles étaient transmis aux chefs-lieux des bases opérationnelles, puis centralisés chaque semaine au siège du programme, par radio, pour analyse avant le cycle suivant. Les hauteurs d'eau relevées à chaque station hydrologique ou captées par des satellites à l'aide de balises, étaient également transmises au siège du programme et transcrites en débits. Ceci permettait aux responsables de l'évaluation et des traitements de moduler les activités (circuits de traitements, cours d'eau à traiter, choix des insecticides et dosages en fonction des débits, ajustement des circuits de capture, mesure de la sensibilité des larves aux insecticides) en fonction de la situation réelle et de préparer le plan de campagne de la semaine suivante.

4.1.2.4 Evaluation épidémiologique de la lutte antivectorielle

- Dans le cadre de l'OCP, l'évaluation épidémiologique de l'impact de la lutte, processus dynamique basé sur des études longitudinales, a consisté à suivre dans un réseau de villages sentinelles, la régression du réservoir de parasite chez l'homme (évaluation parasitologique) et à déterminer l'impact de cette régression sur les manifestations oculaires de la maladie (évaluation ophtalmologique). Les indicateurs qui permettent d'apprécier quantitativement cette régression sont la charge microfilarienne communautaire (CMFC)⁶, la prévalence⁷ et l'incidence de l'infection (Remme, et al. 1986). Ce dernier indicateur est

⁶ CMFC = $[e^{\sum \log(x+1)/N}] - 1$. La CMFC est la moyenne géométrique de WILLIAMS des charges microfilariennes individuelles (x) chez l'ensemble des N sujets de 20 ans et plus examinés. Elle est exprimée en nombre de microfilaries par biopsie (mf/b).

⁷ Le taux de prévalence brute = $\frac{\text{Nombre de personnes positives à la biopsie cutanée (ou au Test du pansement à la DEC)}}{\text{Nombre total de personnes examinées dans le village}} \times 100$

représenté par le pourcentage de nouvelles infections dans une population à risque (enfants nés après le début du programme positifs à la biopsie cutanée ou personnes trouvées positives après deux tests négatifs consécutifs séparés d'au moins deux années). On considère que l'onchocercose pose un problème de santé publique lorsque la CMFC est supérieure à 5-10 microfilaires / biopsie (en zone de savane d'Afrique de l'Ouest, les complications oculaires de l'onchocercose apparaissent lorsque que la CMFC dépasse 10 microfilaires par biopsie, Remme et al., 1989).

A l'OCP, l'examen parasitologique consistait à rechercher et à dénombrer les microfilaires présentes dans deux biopsies cutanées exsangues prélevées au niveau des crêtes iliaques. Les examens ophtalmologiques portaient sur la recherche et le dénombrement des parasites dans la cornée et la chambre antérieure de l'oeil, sur l'identification des diverses lésions oculaires d'origine onchocerquienne (kératites ponctuées et sclérosantes, iridocyclites, atrophies optiques, chorioretinites) et sur le dénombrement et l'étiologie des cécités (Anonyme, 1995).

4.1.3 La lutte chimiothérapique

L'ivermectine (Mectizan[®]) est le seul médicament qui se soit révélé à la fois efficace et sans effets secondaires graves pour le traitement de masse de l'onchocercose (Coulaud, 1983 ; Bissan, 1986). Ce composé a été introduit à grande échelle en 1989 à l'OCP, avec pour objectif de réduire les charges microfilariennes de communauté et de lutter contre la morbidité onchocerquienne (Anonyme, 1995). Il a pour effet de provoquer une diminution rapide, intense et prolongée du nombre de microfilaires (la charge parasitaire dermique reste faible, 10% de la charge initiale, un an après le traitement par l'ivermectine) ; il permet à long terme la prévention de la cécité mais aussi, une amélioration de l'état général entraînant un état de bien-être clairement ressenti (Gaxotte, 1998).

Par ailleurs, plusieurs travaux ont montré que les traitements à l'ivermectine assuraient une diminution de l'intensité de transmission de l'onchocercose (Bissan, 1986 ; Cupp, 1986, 1989, 1992 ; Prod'hon, 1987 ; Boussinesq, 1991). La baisse du taux et de l'intensité d'infestation des simules constatée serait liée à la chute de la microfilarodermie, à la

modification de la distribution verticale des microfilaires dans le derme (elles ont tendance à s'enfoncer dans les couches profondes après traitement à l'ivermectine et échappent ainsi aux pièces buccales des simulies qui ne s'enfoncent que superficiellement dans le derme), et à l'altération du développement ultérieur des microfilaires chez le vecteur (Boussinesq, 1998).

A l'OCP, les traitements de masse à l'ivermectine ont été utilisés dans la totalité des bassins des zones d'extension, en association avec la lutte anti-vectorielle. L'effet de cette combinaison est une amélioration des principaux indices épidémiologiques et entomologiques, celle-ci étant plus nette et plus rapide que lorsque chacune des deux stratégies est mise en application séparément. En effet, en comparant les données entomologiques des foyers du haut Sassandra en Côte d'Ivoire à ceux du haut Niger en Guinée, qui ont été soumis respectivement à la lutte antivectorielle uniquement et à la stratégie de lutte antivectorielle combinée à une chimiothérapie à l'ivermectine, Hougard et al. (1998) observaient que la dernière stratégie conduisait à une réduction de 90% de la transmission en seulement deux ans, alors que six années de lutte antivectorielle étaient nécessaires pour aboutir au même résultat (figure 7). Selon les auteurs, ces deux foyers présentaient les mêmes caractéristiques des points de vue entomologique (identité des espèces et dynamique des populations de simulies), parasitologique et épidémiologique (prévalence de l'infection et taux de cécité dans la période de prétraitement).

Il a aussi été montré qu'administrée à un rythme annuel en zone hyperendémique de savane guinéenne, l'ivermectine seule a un impact sur la transmission, avec 65 et 85% de réduction des principaux indices entomologiques (Hougard et al., 1998). Cet impact n'est cependant pas suffisant pour interrompre la transmission de l'onchocercose. Cela serait lié à l'absence d'un effet macrofilaricide de l'ivermectine, à la persistance d'un réservoir de parasite suffisant pour maintenir la transmission (une frange de la population échappant toujours au traitement) (Boussinesq, 1998) et à des contaminations de parasites exogènes par les simulies migrantes (Dadzie et al., 2003). En revanche, il permettrait de maîtriser la survenue d'une recrudescence de la transmission dans les foyers où cette dernière se poursuivrait à un très bas niveau après l'arrêt des opérations de lutte antivectorielle.

Dans le cadre de l'OCP, et maintenant de l'APOC et des programmes nationaux de lutte dans les anciens pays d'OCP, l'ivermectine est administrée à la dose orale unique de 150 µg/kg de poids corporel, à toutes les personnes des communautés hyper- et mésoendémiques à l'exception des enfants de moins de cinq ans, des femmes enceintes ou allaitant un enfant de moins d'une semaine et des sujets en mauvais état général.

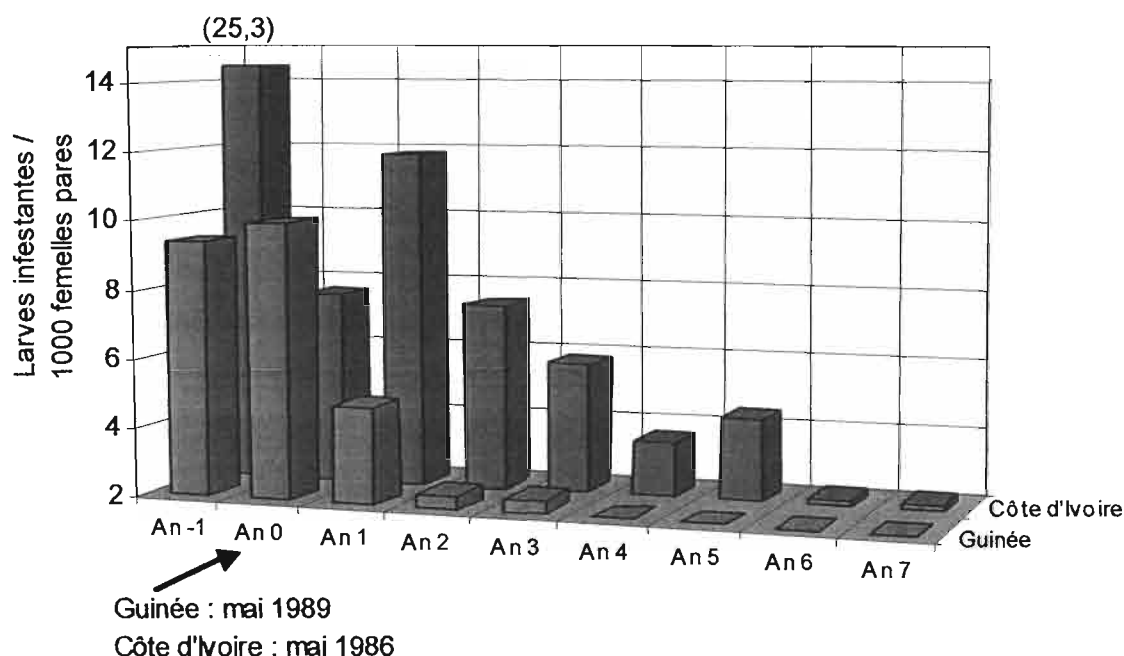


Figure 7 : Impact des traitements par ivermectine et/ou larvicides sur la transmission : Evolution comparée en Guinée et en Côte d'Ivoire du nombre de larves infectantes d'*O. volvulus* pour 1000 femelles paires de *S. damnosum* s.l. L'an 0 correspond à la 1^{re} année de lutte efficace (larvicide+ivermectine en mai 1989 pour la Guinée, larvicides seuls en mai 1986 pour la Côte d'Ivoire). Hougard et al., 1998

4.1.4 Situation actuelle de la lutte dans l'aire OCP et perspectives

Il convient de distinguer la situation de l'aire initiale et celle des aires d'extension de l'OCP (cf. illustration 2 du chapitre « introduction ») :

Dans l'aire initiale, les traitements insecticides menés durant 14 ans ont été définitivement arrêtés au début des années 1990, après que les critères suivant ont été satisfaits :

- Les tendances des taux de prévalence de l'infection et des charges microfilariennes communautaires étaient en nette régression dans les communautés, avec des valeurs proches de zéro.
- Aucune nouvelle infection n'était observée (taux d'incidence nulle). On enregistrait moins d'une femelle pare infectée par *O. volvulus* pour 1000 femelles paires de *S. damnosum* s.l. disséquées.

Les enquêtes épidémiologiques effectuées plus de huit années après l'arrêt des traitements insecticides ont confirmé ces excellents résultats, sans qu'il n'y eût besoin de traitements insecticides supplémentaires ou de campagnes chimiothérapiques. Ainsi, des évaluations ophtalmologiques menées en 2000 (Boatin, 2003) ont montré que la prévalence de la cécité dans les communautés était partout inférieure à 1% (alors qu'elle était supérieure à 10% au lancement de l'OCP) et que les aveugles étaient retrouvés uniquement dans les couches de population âgées de plus de 30 ans au moment de cette enquête.

A l'intérieur des aires d'extension, il y a aussi lieu de distinguer deux situations : d'une part la zone située à l'ouest de l'aire initiale, comprenant le sud-ouest du Mali et l'est de la Guinée Bissau et du Sénégal ; et d'autre part toutes les autres aires d'extension.

Dans le premier cas, l'ivermectine a été le seul moyen de lutte depuis 1988/1989, les traitements insecticides ayant été menés de manière sporadique en 1989 et 1990. Les taux de prévalence y ont considérablement chuté mais, n'étaient pas encore partout égaux à zéro. La transmission semble avoir été interrompue dans certains foyers qui ont reçu l'ivermectine depuis plus de 16 années. Pour confirmer cette hypothèse, une étude, sur la faisabilité de l'élimination de l'onchocercose par l'ivermectine, est en cours dans l'est du Mali (bassins fluviaux de la Falémé et du Bakoye), dans l'est du Sénégal (bassins de la Gambie et de la Falémé) et l'est de la Guinée Bissau (bassins du Rio Corubal et du Rio Geba).

Les résultats préliminaires des analyses que nous avons effectuées sur les filaires collectées chez les simules capturées en 2005 et 2006 dans le cadre de cette étude, indiquaient que 100% des onchocerques récoltées étaient d'origine animale. Si cette tendance se confirmait, les conclusions qui en découleraient donneraient des indications pertinentes sur la possibilité de l'élimination de l'onchocercose par le traitement à l'ivermectine, ou sur les modalités (lieu et durée) d'arrêt des traitements à l'ivermectine en Afrique, sans risque de reprise de la transmission de l'onchocercose.

Dans les autres aires d'extension de l'OCP, la lutte antivectorielle a été combinée à une chimiothérapie à l'ivermectine. Les ATP étaient inférieurs à 100 dans la plupart des points de capture du réseau de surveillance entomologique. Les évaluations épidémiologiques montraient une nette régression des signes cliniques dans les communautés (Boatin, 2003). Cependant, en raison de problèmes locaux de transmission résiduelle persistante dans cinq bassins de ces aires d'extension (au Bénin, au Ghana, en Guinée Conakry, et au Togo), la création de zones dites d'interventions spéciales (SIZ de l'anglais : Special Intervention Zones) a été décidée. La Sierra Leone, où la situation épidémiologique est revenue dans tout le pays à son état d'avant OCP, après une décennie d'arrêt de toutes les activités de lutte, a été adjointe aux SIZ.

Les SIZ ont été mises en place en janvier 2003. Dans ces zones, les activités reposent sur la lutte antivectorielle et le TIDC (Traitement à l'Ivermectine sous Directive Communautaire) renforcé sur les hauts bassins du Mono et de l'Ouémé au Bénin et au Togo et uniquement sur le TIDC renforcé au Ghana à Asubende, en Guinée et en Sierra Leone.

L'objectif est de ramener et maintenir les paramètres entomo – épidémiologiques dans les foyers concernés à des niveaux incompatibles avec toute recrudescence de transmission et tout retour de la maladie en tant que problème de santé publique.

4.2 Les autres programmes de lutte (APOC et OEPA)

Le remarquable succès du programme OCP et l'initiative des laboratoires Merck de faire don du Mectizan® pour le traitement de l'onchocercose, aussi longtemps qu'il le faudrait (Fettig, 1998), ont permis la mise en place de nouveaux programmes de lutte contre l'onchocercose. Il s'agit notamment du Programme d'élimination de l'onchocercose dans les Amériques (Onchocerciasis Elimination Program for the Americas ou OEPA) créé en 1991, et du Programme Africain de Lutte contre l'Onchocercose (en anglais APOC, pour African Programme for Onchocerciasis Control ou APOC), lancé en décembre 1995.

Le programme OEPA a pour mission de coordonner les efforts de lutte contre l'onchocercose dans les six pays d'endémie sur le continent américain (Brésil, Colombie, Equateur, Guatemala, Mexique et Venezuela) ; son objectif est l'élimination de la maladie. La stratégie mise en oeuvre par l'OEPA consiste à renforcer les ministères de la santé des

six pays d'endémie pour qu'ils puissent offrir un traitement de masse durable des populations au moyen de l'administration semestrielle d'ivermectine. L'objectif des programmes nationaux de traitement est de traiter au moins 85% des personnes éligibles pour le traitement qui vivent dans les communautés d'endémie onchocercienne connues.

Le programme APOC a pour but de mettre en place, sur une période de 12 ans, des systèmes durables de distribution d'ivermectine (Mectizan®) par les communautés affectées. Le programme vise à protéger quelques 80 millions de personnes dans 19 pays qui ne faisaient pas partie de l'OCP et où l'onchocercose demeure un problème de santé publique. Ces pays sont : l'Angola, le Burundi, le Cameroun, le Congo, l'Éthiopie, le Gabon, la Guinée Équatoriale, le Kenya, le Liberia, le Malawi, le Nigeria, l'Ouganda, la République Centrafricaine, la République Démocratique du Congo, le Rwanda, le Soudan, la Tanzanie et le Tchad. **[NB : 17 pays dans la liste ; expliquer]**

MATERIEL ET METHODES

1. Zone d'étude du mouvement migratoire des simulies.



Figure 8 : Étude du mouvement migratoire des simulies :
Localisation géographique des pays de collecte

1.1. LA SIERRA LEONE

1.1.1. Présentation physique

1.1.1.1. Présentation générale du pays

La Sierra Leone couvre 71 740 km² et s'étend sur 340 km nord-sud et 300 km est-ouest. Le pays est ouvert sur l'Océan Atlantique par ses bordures sud et ouest, correspondant à 400 km de côtes. En 2004, on estimait la population totale du pays à 5 166 000 habitants dont 61% vivant en zone rurale, avec une densité moyenne de 72 habitants au km² (Figure 9a).

1.1.1.2. Climat

Le climat est typiquement tropical, chaud et humide, avec une précipitation moyenne annuelle de 2526 mm. On distingue deux saisons : une saison sèche de novembre à avril, n'apportant que 6 à 7 % du total des précipitations annuelles et une saison humide le reste de l'année, avec le maximum des précipitations en juillet, août et septembre. L'axe passant par Kenema et Makeni délimite grossièrement deux zones de pluviométrie : la zone au sud de cet axe est plus arrosée avec une pluviométrie annuelle comprise entre 2475 et 4974 mm ; tandis que celle située au nord de l'axe, reçoit annuellement, entre 1475 et 2474 mm de précipitation (figure 9b). L'humidité relative moyenne varie de 80% en saison humide à 50% en saison sèche. Cependant elle peut descendre jusqu'à 20% au nord en période d'harmattan.

1.1.1.3. Végétation

La répartition de la végétation sierra léonaise traduit grossièrement la zonalité du régime des précipitations (figure 9c). La forêt dense mais très dégradée prévaut au sud de l'axe Kenema - Makeni, tandis qu'au nord de l'axe la végétation est constituée de savane et de forêt claire.

1.1.1.4. Relief

La Sierra Leone est un pays de faible relief dans sa partie occidentale (figure 9d). Les plaines (côtières et intérieures) couvrent 57% du territoire du pays. Les plateaux intérieurs d'environ 500 mètres d'altitude, représentent 22% du territoire. Enfin, 21% de la superficie du pays sont constitués par les collines et montagnes. Le point culminant est la montagne Loma Mansa à l'est du pays, piton volcanique haut de 1948 m.

1.1.2. Situation de l'onchocercose

L'onchocercose concerne la quasi totalité du territoire sierra léonais, dont 12 des 13 districts administratifs du pays sont endémiques. Seul le « western district », autour de la capitale Freetown est exempt d'onchocercose.

Les enquêtes épidémiologiques menées par OCP en 1989/1990 dans le pays ont montré que 48% des villages étaient hyperendémiques, 38,7% mésoendémiques et 13,3% hypoendémiques. En 1990, les traitements aériens des rivières sierra léonaises ont débuté concomitamment avec la distribution à grande échelle de l'ivermectine par des équipes mobiles. Ces activités se sont poursuivies jusqu'en 1994 ; elles ont été interrompues par la guerre civile qui a ravagé le pays pendant une décennie. Cependant, les résultats de ces quatre à cinq années de lutte antivectorielle combinée à la chimiothérapie avaient été spectaculaires, avec une réduction drastique d'environ 98-99% des populations simulidiennes de savane et de leur rôle dans la transmission (Bissan et al., 1995). Mais à la clôture de l'OCP en 2002, les tableaux épidémiologiques de l'onchocercose étaient quasiment revenus à la situation de prétraitement avec des taux de prévalence de l'infection et des CMFC pouvant atteindre respectivement 73,3% et 19,1 microfilaires / biopsie.

La Sierra Leone, par conséquent, a été désignée pour être une zone d'intervention spéciale (SIZ), pour une période de cinq ans (de 2003 à 2007) selon le schéma retenu pour les autres poches de transmission résiduelle de l'aire de l'ex-OCP. La stratégie utilisée est le renforcement du traitement à l'ivermectine sous directive communautaire (TIDC) ; elle vise à atteindre une couverture géographique de 100% (la totalité des villages endémiques) et une couverture thérapeutique de 85 %.

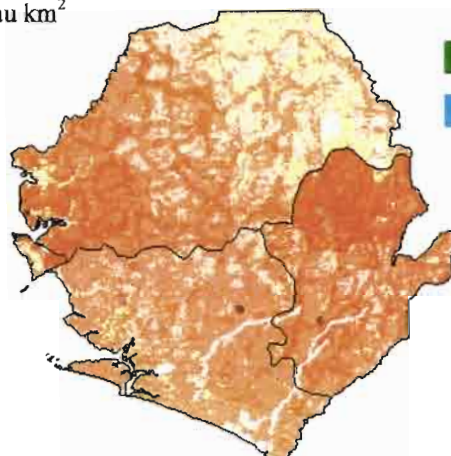
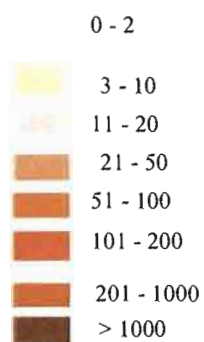
Nombre d'habitants au km²

Figure 9a : Répartition de la population en Sierra Leone

Précipitation mm / an

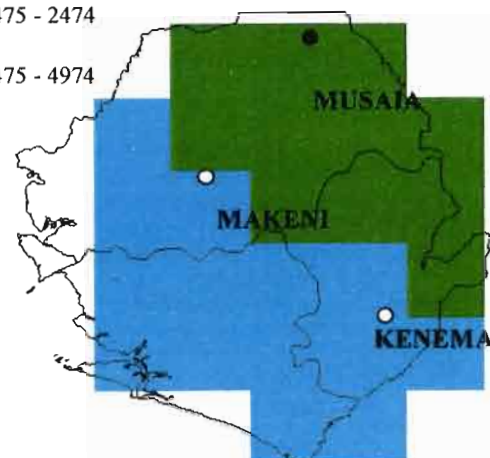


Figure 9b : Répartition de la pluviométrie en Sierra Leone



Couverture végétale

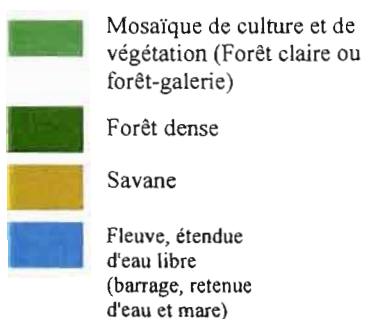


Figure 9c : Couverture végétale de la Sierra Leone



Altitude en mètres

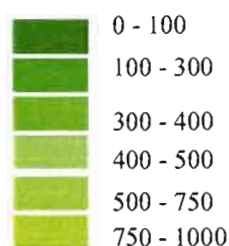


Figure 9d : Relief de la Sierra Leone

1.2. LA GUINEE CONAKRY

1.2.1. Présentation physique

1.2.1.1. Présentation générale du pays

La République de Guinée a une superficie de 245 857 km². La population totale était de 8,6 millions d'habitants en 2004, dont 64% de ruraux. La densité moyenne est de 35 habitants au km², avec des valeurs extrêmes comprises entre 16 (région de Beyla en Guinée pré forestière) et 106 habitants au km² (autour de Labé en moyenne Guinée) (figure 10a).

1.2.1.2. Climat

Le climat de la Guinée est tropical, et présente des différences selon les quatre régions naturelles du pays :

- La Guinée maritime (ou basse Guinée), couvrant 15% de la superficie totale du pays, est caractérisée par un climat tropical maritime. Les températures oscillent entre 21°C et 35°C. La saison pluvieuse débute en avril mai et se prolonge jusqu'en novembre, avec un maximum de pluies en août. Les précipitations varient entre 1475 et 2474 mm par an (figure 10b). La saison sèche, très marquée, débute fin novembre.
- La moyenne Guinée, couvrant 26% de la superficie totale du pays, est caractérisée par un climat tropical de montagne. L'amplitude thermique diurne subit des variations relativement fortes (16° C - 37° C) à Labé. La durée de la saison des pluies varie de cinq mois (Koundara) à huit mois (Mamou) avec des précipitations inférieures à 1474 mm / an au nord et comprises entre 1475 et 2474 au sud.
- La haute Guinée, qui s'étend sur 39% de la superficie, se distingue par un climat de type soudanien (tropical sec) avec une pluviométrie annuelle superposable à la précédente en saisonnalité (mais inférieure en quantité). L'amplitude thermique saisonnière est importante, avec des températures extrêmes variant de 14°C en saison pluvieuse à 37°C en saison sèche.
- La Guinée forestière, 20% de la superficie, a un climat subtropical caractérisé par l'alternance de deux saisons : une saison des pluies particulièrement longue, qui dure 10 à

11 mois avec une pluviométrie moyenne d'environ 2500 mm/an. La température moyenne est de 26°C avec des variations comprises entre 19°C et 31°C.

1.2.1.3. Végétation

La Guinée forestière est couverte par la forêt tropicale dense. En haute Guinée, seule la forêt galerie subsiste au sein de la savane arborée alors que la Guinée maritime est surtout couverte de mangrove dans sa zone côtière (les plus importantes de l'Afrique de l'ouest), (figure 10c).

1.2.1.4. Relief

La Guinée est caractérisée par un relief très contrasté. On distingue d'ouest en est les plaines côtières et les basses terres de la Guinée maritime ; les massifs et les hauts plateaux de Fouta Djallon en moyenne Guinée ; les pénéplaines de la haute Guinée avec un relief peu marqué, d'altitude moyenne de 500 mètres ; le massif du mont Nimba en Guinée Forestière, est le point culminant à la fois de la Guinée et de la Côte d'Ivoire (1752 mètres) (figure 10d).

1.2.1.5. Hydrologie

La Guinée a un réseau hydrographique rayonnant très dense (figure 10e). Beaucoup de grands cours d'eau de la sous-région y prennent leur source, ce qui a valu à ce pays l'appellation de « château d'eau d'Afrique de l'ouest ». Ces fleuves et affluents disséminés à travers tout le pays, sont très propices pour la plupart à l'établissement de gîtes pré-imaginaux simulidiens.

1.2.2. Situation de l'onchocercose

Avant l'OCP, et en relation avec le relief marqué et le réseau hydrographique vaste et serré, 80% du territoire du pays étaient considérés comme endémique pour l'onchocercose. Plus de deux millions de personnes étaient exposées, plus d'un demi million d'entre elles étaient infectées et 20 000 aveugles onchocerquiens avaient été dénombrés. L'impact de la maladie était particulièrement visible sur le haut bassin du fleuve Niger et ses grands affluents (Niandan, Milo, Sankarani, Mafou, Kouya, Tinkisso, etc.) (Figure 9e) avec des fréquences élevées d'atteintes oculaires et un impact démographique (sous-peuplement des vallées) et socio-économique marqué. Les faciès épidémiologiques étaient forestiers dans l'extrême sud-est.

La Guinée faisait partir de la zone d'extension ouest de l'OCP, où la lutte antivectorielle débuta avec des traitements expérimentaux en 1984/1985 sur le haut Sassandra et le Sankarani, dans le but de contrôler la ré-invasion de l'aire initiale du programme par des simules exogènes. Ces traitements se sont progressivement étendus pour couvrir, en 1989, l'ensemble des cours d'eau hébergeant les gîtes à *S. damnosum* s.l. A l'exclusion des bassins occidentaux (Konkouré, et cours supérieurs de la Gambie et du Bakoye, zones d'hypo-endémicité) (figure 9e), où les traitements insecticides ont été interrompus deux années plus tard, ces derniers se sont poursuivis dans le reste du pays jusqu'en 1999, 2000 ou 2001, selon les bassins fluviaux. L'ivermectine a été introduite par l'OCP en 1988, puis le TIDC initié en 1997.

A la fin de l'année 2002, à la clôture d'OCP, la situation entomo-épidémiologique a été globalement jugée satisfaisante, à l'exception des vallées du Mafou et du Tinkisso, affluents de la rive gauche du haut Niger.

Sur le Mafou, la lutte antivectorielle et la distribution de l'ivermectine ont débuté en même temps en 1990. Pendant huit ans, les résultats indiquaient une bonne tendance de l'évolution des paramètres entomologiques, qui se sont détériorés par la suite, probablement après un relâchement des efforts de lutte dans cette région reculée soumise à toutes sortes de mouvements de populations. Ainsi, en 1999, on pouvait noter par endroits des taux de prévalence de l'infection de 27,7%, un taux d'incidence annuelle de 7,7% et une CMFC de 0,49.

Sur le Tinkisso, dans un contexte démographique en mutation (zone agricole et minière de repeuplement spontané), la situation entomologique était similaire, bien que les indicateurs épidémiologiques fussent moins alarmants.

La Guinée a été désignée pour être dans les zones d'intervention spéciale (SIZ). A la clôture de l'OCP, une SIZ a été instaurée en Guinée, axée sur les bassins du Mafou et du Milo, où le TIDC renforcé concerne plus de 2400 villages et près de 930 000 habitants (données de 2003).

Sous l'impulsion du programme national de lutte contre l'onchocercose, la situation a été à peu près complètement maîtrisée.

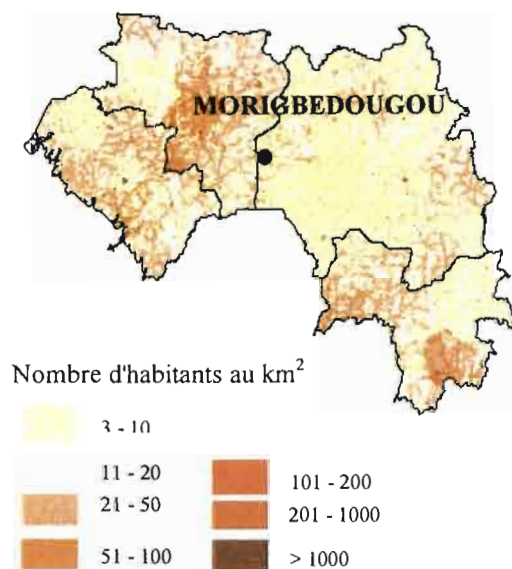


Figure 10a : Répartition de la population en Guinée

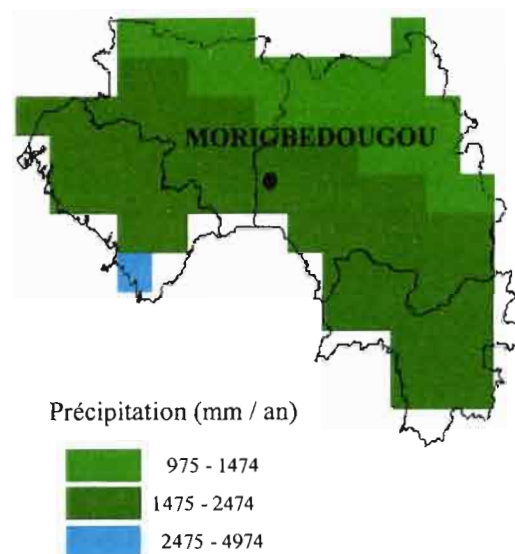


Figure 10b : Répartition de la pluviométrie en Guinée

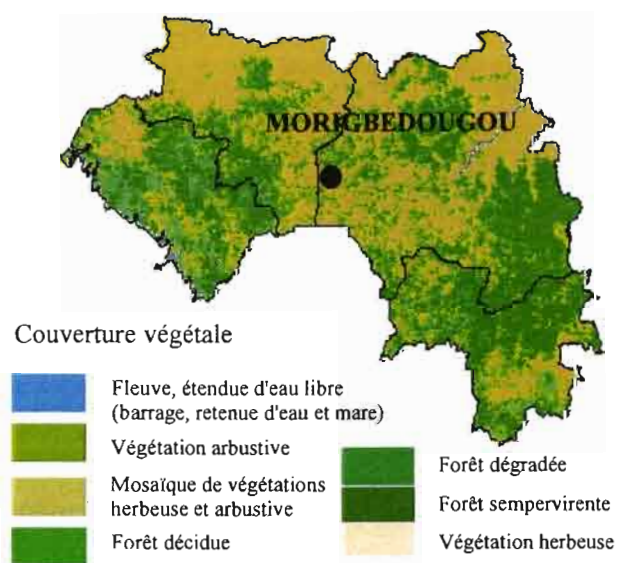


Figure 10c : Couverture végétale de la

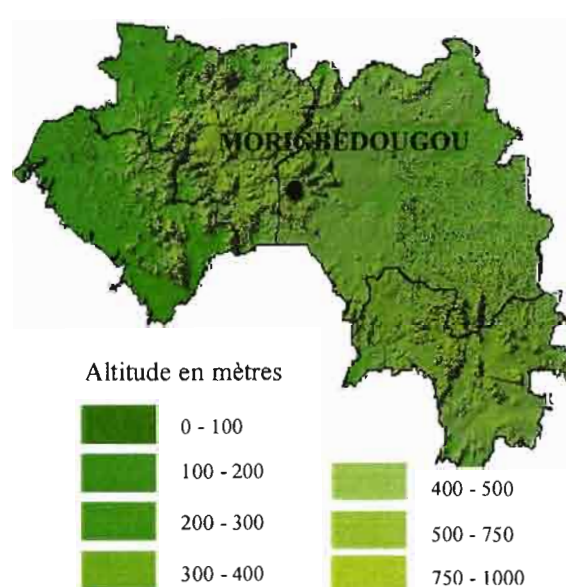


Figure 10d : Relief de la Guinée

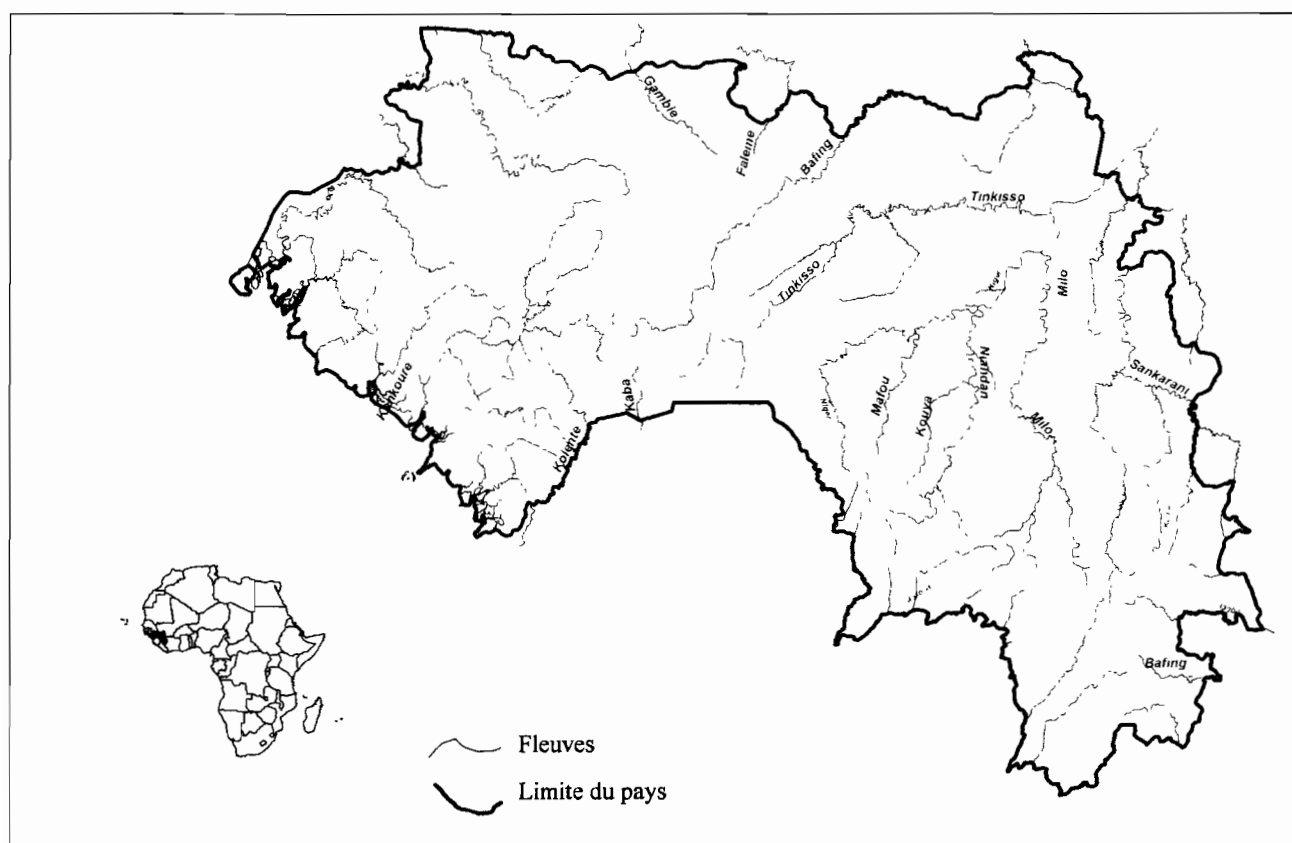


Figure 10 e : Réseau hydrographique de la Guinée

1.3. LE MALI

1.3.1. Présentation physique

1.3.1.1. Présentation générale du pays

Enclavé, le Mali couvre une superficie de 1,24 millions de km², dont 51 % font partie du désert du Sahara. La population du pays en 2004 était de 13,4 millions d'habitants, dont 67% de ruraux. Avec une densité moyenne de 11 habitants au km², le Mali se caractérise par une hétérogénéité entre les régions du nord et celles du sud : 2 et 25 habitants au km² respectivement (figure 11a).

1.3.1.2. Climat

Le Mali a un climat soudanais dans sa partie sud et un climat sahélien et désertique dans sa partie nord. D'une manière générale, les températures moyennes sont très élevées. Les moyennes annuelles de températures varient d'environ 24°C en janvier et 35°C en mai ; elles vont croissant du sud vers le nord. Les précipitations décroissent du sud vers le nord, ce qui permet de diviser le pays en quatre zones bioclimatiques (figure 11b) :

- Au sud, la zone soudano-guinéenne, couvrant 6% de la superficie du pays, reçoit en moyenne 1200 mm de pluie chaque année ;
- Au centre, la zone soudanienne s'étendant sur 17% du territoire, reçoit annuellement des précipitations qui varient entre 725 et 974 mm ;
- Au nord, la zone sahélienne couvrant 26% du territoire. Les précipitations varient de 375 à 924 mm ;
- La zone saharienne plus au nord, couvrant 51% du territoire, où la moyenne des précipitations n'atteint pas 200 mm.

1.3.1.3. Végétation

La distribution de la végétation au Mali se rattache aux quatre types climatiques ci-dessus (figure 11c). La zone soudano-guinéenne au sud est le domaine de la savane boisée et de la forêt claire ; la strate ligneuse est dominée par *Daniella oliveri*, *Isobertinia doka* auxquels sont associées les graminées *Schizachyrium* et *Diheteropogon hagerupii*. La zone

soudanienne est caractérisée par un couvert végétal plus ou moins dense, essentiellement constitué de savane à strate herbacée continue, dominée par des espèces pérennes dont *Andropogon gayanus* ; la strate ligneuse est dominée par *Vitellaria paradoxa*, *Parkia biglobosa* et *Sclerocarya birrea*. Dans la zone sahélienne, la végétation est du type steppe mésophile dans la partie sud, tandis qu'au nord la végétation est du type steppe xérophile composée de graminées et de quelques ligneux du genre *Acacia*.

1.3.1.4. Relief

Constitué à 90 % de vastes plaines et de plateaux, le relief du Mali apparaît peu accidenté (figure 11d). Les régions les plus basses se trouvent dans l'extrême nord du pays au niveau du désert saharien. En dehors de cette zone, le territoire du Mali est presque exclusivement situé entre 200 et 500m d'altitude. On observe dans le sud-ouest du pays, une extension du Fouta Djallon Guinéen, laquelle forme à proximité de Bamako, les plateaux mandingues qui s'élèvent au-dessus de 760m. Le point le plus élevé du Mali est le Mont Hombori, qui culmine à 1155 m d'altitude.

1.3.2. Situation de l'onchocercose

L'onchocercose, concerne cinq des neuf régions administratives que compte le pays : Sikasso, Ségou, Mopti, Kayes et Koulikoro. La partie méridionale de l'aire endémique (bassin du Niger) faisait partie de l'aire initiale d'OCP (illustration 2) et de ce fait a bénéficié du traitement larvicide instauré dans le cadre de la lutte contre le vecteur entre 1975 et 1994. La prévalence onchocerquienne avant le début des opérations de lutte, partout supérieure à 60%, faisait de cette partie du pays une zone d'hyperendémie. On notait par exemple à Nioko sur la Baoulé, des taux de prévalence de l'infection de l'ordre de 80%, des CMFC supérieurs à 10 microfilaires / biopsie et des taux de cécité atteignant 10%. La partie occidentale de l'aire d'endémicité, dans le bassin du Sénégal, faisait partie de l'aire d'extension de l'OCP, mais a été traitée aux larvicides pendant une seule saison. Les foyers de la maladie, généralement moins étendus et moins sévères que ceux de la zone précédente (en relation avec la bio-écologie locale de *S. sirbanum*, très affectée par les grandes sécheresses des années 1970), montraient toutefois localement des taux de cécité onchocerquienne de 3 à 10%.

Les traitements à l'ivermectine ont débuté dans ce pays dès 1988 et le TIDC a été instauré en 1996. En 1999, le ministère malien de la santé a décidé d'intégrer l'ivermectine dans le « paquet minimum » des médicaments essentiels fournis. En 2002, à la clôture d'OCP, la distribution de l'ivermectine couvrait 79,8 % des aires endémiques et 87,86% des

personnes éligibles pour le traitement. Le TIDC se poursuit depuis 2002 dans le cadre du programme national de lutte contre l'onchocercose.

Des enquêtes épidémiologiques effectuées en 2001 ont montré que sur 88 villages examinés, 65% avaient un taux de prévalence nul (0%) et seulement 8% des taux de prévalence supérieurs à 5%. Sur le plan entomologique, les PAT étaient tombés en dessous du seuil de tolérabilité de 100 dans la totalité des bassins fluviaux du pays.

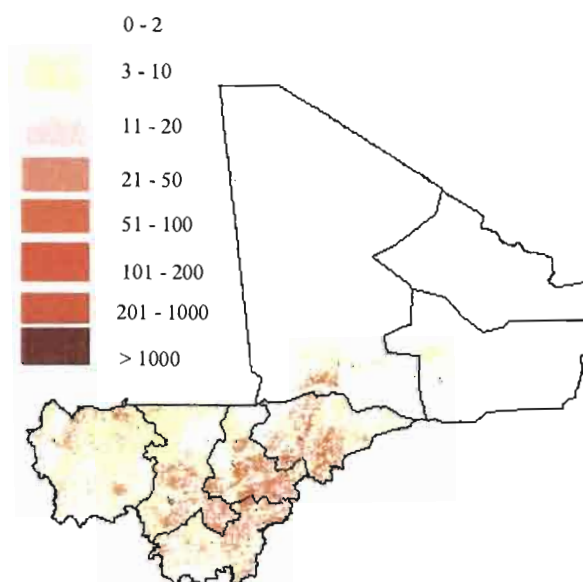
Nombre d'habitants au km²

Figure 11a : Répartition
de la population au Mali

Précipitation mm / an

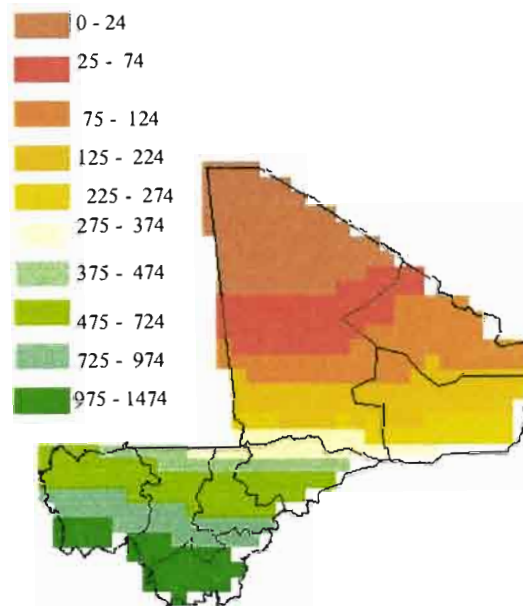


Figure 11b : Répartition de la
pluviométrie au Mali

Couverture végétale

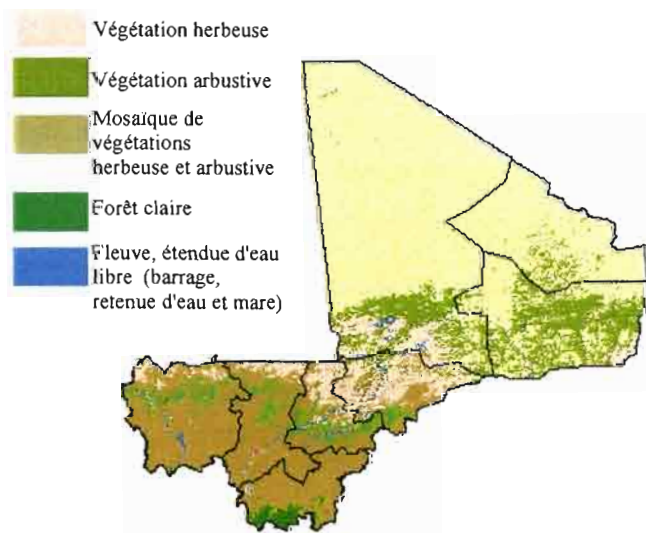


Figure 11c : Couverture végétale du Mali

Altitude en mètres

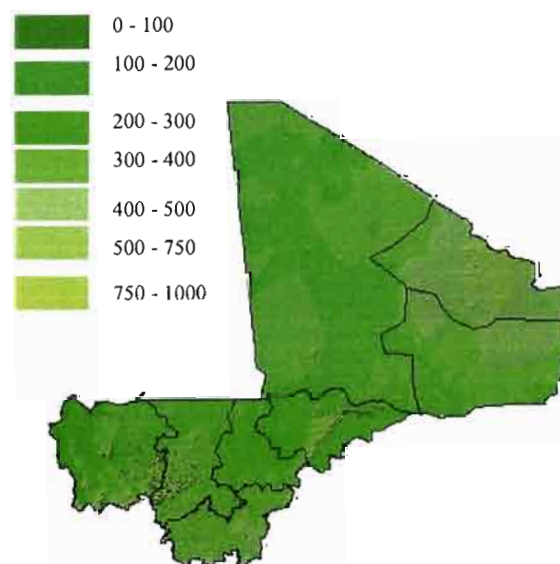


Figure 11d : Relief du Mali

2. Changements bioclimatiques et onchocercose : Zones d'étude

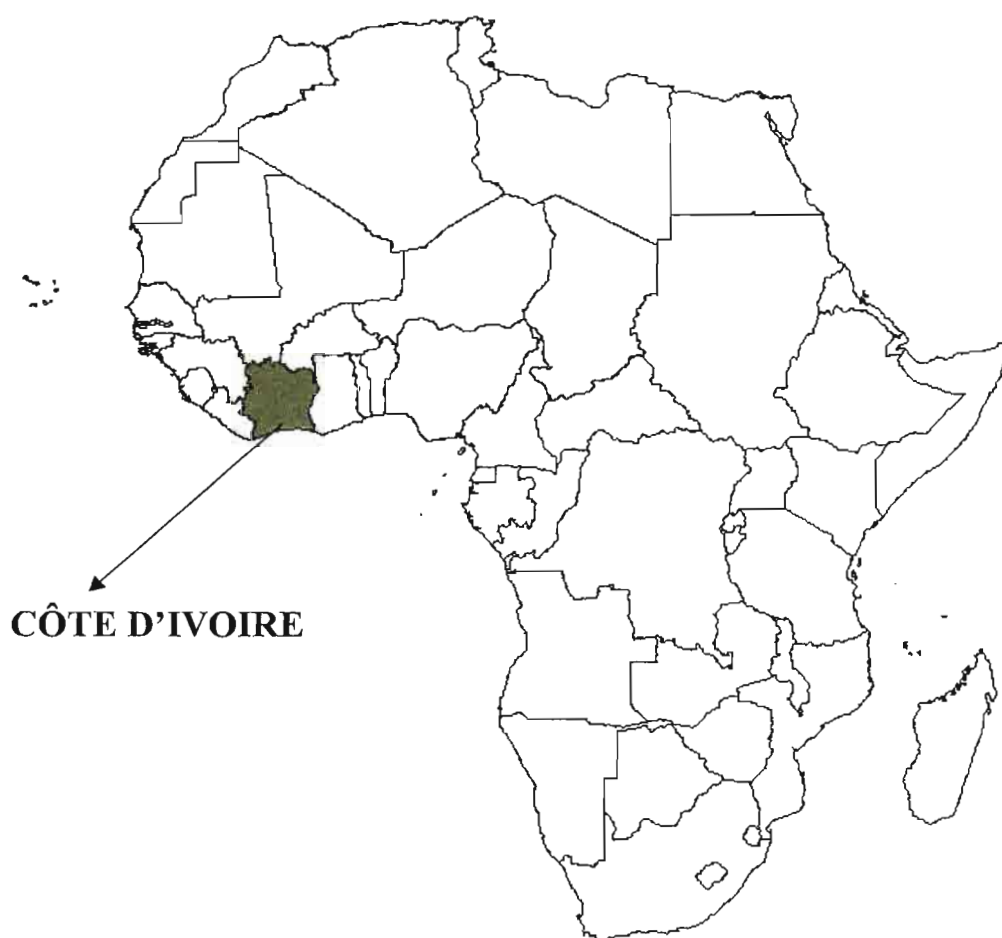


Figure 12 : Changements bioclimatiques et onchocercose : localisation géographique du pays d'étude

2.1. Présentation physique de la Côte d'Ivoire

2.1.1. Présentation générale

La Côte d'Ivoire est située en Afrique de l'ouest, entre les 4°30' et 10°30' de latitude nord et entre 2°30' et 8°30' de longitude ouest. Le pays, dont la superficie couvre 322 600 km², est limité au sud par l'Océan Atlantique (environ 600 km de côtes), au nord par le Mali et le Burkina Faso, à l'est par le Ghana et, à l'ouest, par le Liberia et la Guinée.

2.1.2. Climat

La Côte d'Ivoire appartient au domaine des climats chauds de la zone intertropicale. Le régime pluviométrique est lié aux déplacements du front intertropical de transition (F.I.T.), qui est une zone de contact de deux masses d'air : une masse d'air venant du nord, caractérisée par un vent sec et chaud et chargé, de décembre à janvier, de fines poussières de l'harmattan ; une masse d'air venant du sud-ouest, de l'Océan Atlantique, constituée d'un air humide. Le contact de ces deux masses d'air provoque des précipitations de type mousson. Les mouvements saisonniers du FIT au-dessus du territoire national permettent de distinguer quatre types de climat caractérisés par un rythme et un volume de précipitations variables (figure 13a) :

- un climat équatorial (appellation locale : Attiéen ou Akiéen) qui se singularise par l'abondance des précipitations (1400 à 2500 mm avec un maximum au mois de juin) et couvre les deux tiers de la Côte d'Ivoire forestière. On y distingue quatre saisons dont une grande saison des pluies d'avril à juillet, une petite saison sèche de juillet à septembre, une petite saison des pluies de septembre à novembre et une grande saison sèche de décembre à mars. Les températures annuelles varient entre 25,5°C et 27°C;
- un climat tropical humide (appellation locale : Baouléen) dans le centre du pays, avec des précipitations qui varient de 850 à 1700 mm. On distingue une saison sèche qui s'étend de novembre à mars et une saison des pluies marquée par deux pluviométries maxima : l'une au mois de juin et l'autre au mois de septembre. Les saisons intermédiaires (petites saisons sèche et pluvieuse) sont relativement discrètes. Les températures annuelles se situent entre 25°C et 27,5°C;

- un climat tropical dans le nord du pays (Soudanien) avec deux saisons très contrastées : une saison sèche très longue (six à huit mois) et une saison des pluies assez courte (juin à septembre). Les températures annuelles sont très homogènes (26°C - 27,5°C);

- un climat sub-montagnard dans le centre-ouest du pays, lié au relief montagneux et qui se distingue par une saison des pluies très longue, une abondance des précipitations (1350 à 2300 mm) avec un maximum au mois de septembre, et une saison sèche de courte durée. C'est également le climat qui présente les températures moyennes annuelles les plus basses de toute la Côte d'Ivoire ; celles-ci sont généralement inférieures à 25°C.

2.1.3. Végétation

La végétation du pays est déterminée par la diversité des zones climatiques, la nature des sols et des reliefs entre le nord et le sud du pays (figure 13b). On distingue, du sud au nord : les forêts denses ombrophiles sempervirentes, qui appartiennent, en fait, à un ensemble plus vaste, couvrant à la fois le Liberia, la Côte d'Ivoire et l'ouest du Ghana ; les forêts denses mésophiles, semi-décidues (chaque année pendant la grande saison sèche, la plupart des arbres des strates supérieures perdent d'une manière très significative une quantité impressionnante de leurs feuilles) ; les savanes pré-forestières, qui occupent ce qu'on a communément appelé le « V Baoulé », et sont selon Adjanooun (1964), « des étendues de hautes herbes enclavées dans les forêts denses, parsemées d'arbres et de rôniers (*Borassus aethiopum*), parcourues par de nombreuses forêts galeries, qui contiennent des îlots reliques de forêts denses et qui, sans brûlis, évoluent en forêts denses de type semi-décidu » ; enfin, les formations végétales typiques du climat tropical, constituées, selon l'importance du peuplement en ligneux, de savanes arborées et/ou savanes boisées, de savane arbustives et/ou savanes herbeuses.

Par ailleurs, il est important de mentionner que la végétation de la Côte d'Ivoire a abondamment mué au cours des dernières décennies sous l'influence de l'action de l'homme qui en a fait un usage abusif et désordonné, allant largement au-delà du simple besoin de l'exploitation vitale (FAO, 1993). Selon Sayer et al. (1992), estimée à sept millions d'hectares vers 1900, la forêt couvrait moins de trois millions d'hectares en 1990 (tableau 3).

Date	Estimation (millions d'ha)
Vers 1900	7-8
Fin 1955	7-8,8
Fin 1965	6,3
Fin 1973	5,5
Fin 1980	-
Fin 1990	2,7

Tableau 3 : Estimations de la modification du couvert forestier en Côte d'Ivoire, d'après Sayer et al. (1992).

2.1.4. Relief

La Côte d'Ivoire est un pays au relief peu accidenté (figure13c). Il se caractérise, au sud, par des plaines où les altitudes varient de zéro à 200 m de la mer vers l'intérieur. Au centre, les plateaux prolongent les plaines vers le nord. Les altitudes varient de 200 à 500 m. Quelques reliefs surmontent par endroit ces plateaux. Il s'agit de collines isolées ou en chaîne (chaîne baoulé) situées au centre ; de collines en forme de buttes aux versants plus abrupts, appelées « Bokas » (au singulier « bowal ») fréquentes dans le nord et le centre ; de dômes, où la roche apparaît généralement à nu, qui se rencontrent au nord-ouest (surtout entre Séguéla et Mankono). Enfin dans l'ouest de pays, le relief est marqué par des massifs montagneux, constituant l'avancée orientale d'un vaste ensemble de hautes terres centrées sur la Guinée. L'on y rencontre des sommets culminant au-delà de 1000 m d'altitude : les monts Sangbé (1072 m), Toura (1170 m), Momi (1302 m) et Nimba, dont le sommet, point culminant du territoire ivoirien, est à environ 1752 m.

2.1.5. Population

La population du pays, estimée à 15 300 000 habitants en 1998, est caractérisée par un pourcentage élevé de jeunes (les moins de 15 ans représentaient en 1998, 46% de la population contre à peine 4% pour les plus de 60 ans) (Anonyme, 1998a). Bien que la population tende de plus en plus à s'urbaniser, la majorité demeure encore rurale. On notait en 1988 que 61% de la population vivait en zone rurale contre 68% en 1975. La densité moyenne

(47,4 habitants au km²), cache une très grande inégalité de la répartition spatiale de cette population. La zone forestière qui couvre environ 48% de la superficie du pays, abrite à elle seule plus de 72% de la population (figure 13d).

Une autre caractéristique majeure de cette population est constituée par un taux élevé de migrants. Des migrations (internes et externes), motivées par des raisons économiques, ont participé à la recomposition de l'occupation du territoire depuis trois quarts de siècle. L'économie de plantation avec les cultures de rente comme le café, le cacao, le palmier à huile, l'hévéa, etc.... a constitué le facteur le plus déterminant de ces migrations. Les courants migratoires internes portaient globalement des zones économiquement défavorisées (la moitié nord du pays) vers les zones où le développement économique avait été amorcé : d'abord le sud et l'est (avec la boucle du cacao), ensuite le centre-ouest en raison des terres disponibles pour les cultures, mais également les zones qui ont bénéficié d'une politique volontariste de mise en valeur à travers les programmes ARSO (Autorité pour la région du Sud-ouest) et AVB (Autorité pour l'Aménagement de la Vallée du Bandama), au centre du pays. Les migrations externes (vers la Côte d'Ivoire) ont véritablement commencé pendant la colonisation du pays avec la mise en valeur des ressources de la colonie. Avec la raréfaction de la main d'œuvre à cette époque au niveau national pour les travaux d'intérêt commun et pour garantir une production en quantité des matières premières comme le bois, le café et le cacao, dans une agriculture non mécanisée, des mesures ont été prises pour favoriser une migration externe, particulièrement celle des Voltaïques et des Soudanais, ressortissants des colonies au nord de la Côte d'Ivoire. Parmi les mesures prises, on peut citer la réquisition de la population dans une période allant d'une semaine à six mois, le rattachement à la Côte d'Ivoire de cinq unités administratives de la Haute Volta, renfermant les deux tiers de sa population. Après l'abolition des travaux forcés et le rétablissement de la Haute Volta comme entité à part entière, les mouvements vers la Côte d'Ivoire se sont poursuivis sous diverses formes : recrutements volontaires et départs individuels ou familiaux. L'accession des pays en question à l'indépendance en 1960 n'a pas pour autant arrêté les migrations qui, au contraire, se sont accrues d'année en année. En 1975, la population étrangère représentait 22% des résidents de la Côte d'Ivoire. Elle vivait principalement en zone rurale et dans la moitié sud du pays (l'OCP venait d'être lancé et son aire en Côte d'Ivoire couvrait uniquement le nord du pays). Cette proportion est passée à 28% en 1988 et à 26% dix ans plus tard, représentant

1 500 000, 3 300 000 et 4 000 000 de personnes, respectivement, dont plus de la moitié originaire du Burkina Faso¹ (ex Haute Volta) (Zanou, 2001).

On retiendra de ces observations que le réservoir local de parasite, surtout dans la moitié sud du pays, a subi des transformations par un enrichissement exogène au cours des dernières décennies et qu'il est probablement maintenant très hétérogène. Ce facteur est susceptible d'influer sur l'épidémiologie de la maladie dans les foyers concernés.

2.2. Situation de l'onchocercose

En Côte d'Ivoire, l'onchocercose est présente sur l'ensemble du territoire qui contient de nombreux cours d'eau favorables à l'établissement de gîtes pré-imaginaux simuliens (figure 13e). Au début de l'OCP, la situation épidémiologique était variable selon les régions. Dans l'aire initiale d'OCP en Côte d'Ivoire, une enquête effectuée en mai 1977 par l'OCCGE et l'OMS dans 23 villages du haut bassin du Sassandra (départements d'Odienné et Toubala) a montré que ce foyer constituait « le plus grave foyer d'onchocercose actuellement connu, grave à la fois par son extension, par l'intensité du parasitisme, par l'ampleur des complications oculaires et par la situation proprement catastrophique de certaines zones. Sur les 23 villages examinés, un seul compte moins de 75% de malades. Même la ville de Borotou dépasse les 75%, ce qui est exceptionnel pour une agglomération de cette importance. Enfin, deux villages dépassent 90%, ce qui n'est le cas d'aucune des 300 agglomérations visitées jusqu'ici dans les sept états du programme OCP. La prévalence de l'onchocercose oculaire est la plus élevée jamais rencontrée par l'unité d'évaluation épidémiologique d'OCP : plus de 60% de la population examinée, dans cinq des sept villages considérés, présente des signes de parasitisme oculaire. La proportion des lésions (oculaires) graves est élevée, atteignant 27,9% à Massadougou. Plus grave encore est le fait que de nombreux jeunes de moins de 20 ans sont atteints d'un handicap définitif » (Prost et al. 1977). Certes, la situation n'était pas aussi catastrophique dans l'ensemble de l'aire initiale d'OCP en Côte d'Ivoire, mais ces foyers présentaient tous les caractéristiques épidémiologiques de l'onchocercose de savane, avec une intensité de transmission et des taux de lésions oculaires élevés (exemples : bassins du haut

¹ Le dernier recensement ivoirien (1998) faisait état de la présence de 2,2 millions de Burkinabè en Côte d'Ivoire, soit plus de la moitié de la population étrangère et environ 14% de la population nationale. Parmi eux, certains sont des migrants récents, d'autres des individus installés de longue date, d'autres enfin nés en Côte d'Ivoire. La majorité des Burkinabè en Côte d'Ivoire réside en milieu rural (63%) (Zanou, 2001)

Bandama et de la Comoé-Léraba).

Avec le succès des traitements larvicides menés sans interruption pendant 18 ans, les PAT ont subi une régression spectaculaire. Les évaluations épidémiologiques menées en 1992, ont montré que la situation épidémiologique était bonne (prévalence partout inférieure à 5%) (Anonyme, 1993).

Dans la zone d'extension de l'OCP, où les traitements larvicides ont débuté en 1979 (bassins du Sassandra, du Marahoué, du Nzi-Bandama et de la Comoé) (figure 13e), les données entomologiques indiquaient une intensité de transmission élevée avant les traitements insecticides. Cette zone était également une zone d'hyperendémie onchocerquienne avec des prévalences supérieures à 60%. Les enquêtes effectuées par OCP montraient des situations épidémiologiques diversifiées allant du faciès épidémiologique de savane et celui de forêt. En sus de la lutte anti-vectorielle, l'ivermectine a été introduite à grande échelle dans cette zone à partir de 1992. Cette stratégie combinée de lutte a donné d'excellents résultats, qui ont permis un arrêt progressif des traitements larvicides à partir de la fin de l'année 1998. En effet, les ATP dans ces foyers ont régressé jusqu'à devenir pratiquement nuls dès 1997. De même, la prévalence du parasite dans la population humaine était-elle partout inférieure à 20% (Anonyme, 1998b).

Plus au sud encore, dans la zone de forêt (figure 13e), la lutte contre l'endémie a véritablement débuté en 1996 par des campagnes de masse à l'ivermectine. L'onchocercose était de type de forestier, comme l'avaient montré les enquêtes épidémiologiques de Lartigue et al. (1964) et de Bope (1972) dans le foyer du bas – Bandama : hautes prévalences (70 à 80% de porteurs de parasite), mais rareté des lésions oculaires, surtout des lésions avancées du segment antérieur. En raison des troubles socio-politiques survenus en Côte d'Ivoire, qui ont entraîné de fortes perturbations dans les activités du programme national de lutte, peu d'informations sont disponibles sur les prévalences actuelles dans cette zone.

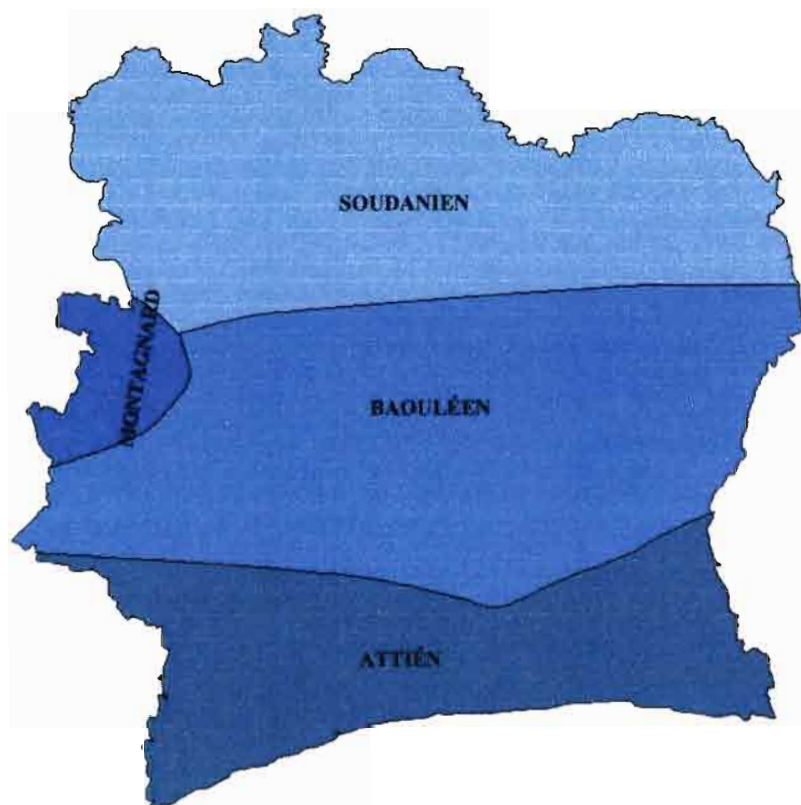


Figure 13a : Zones climatiques de la Côte d'Ivoire

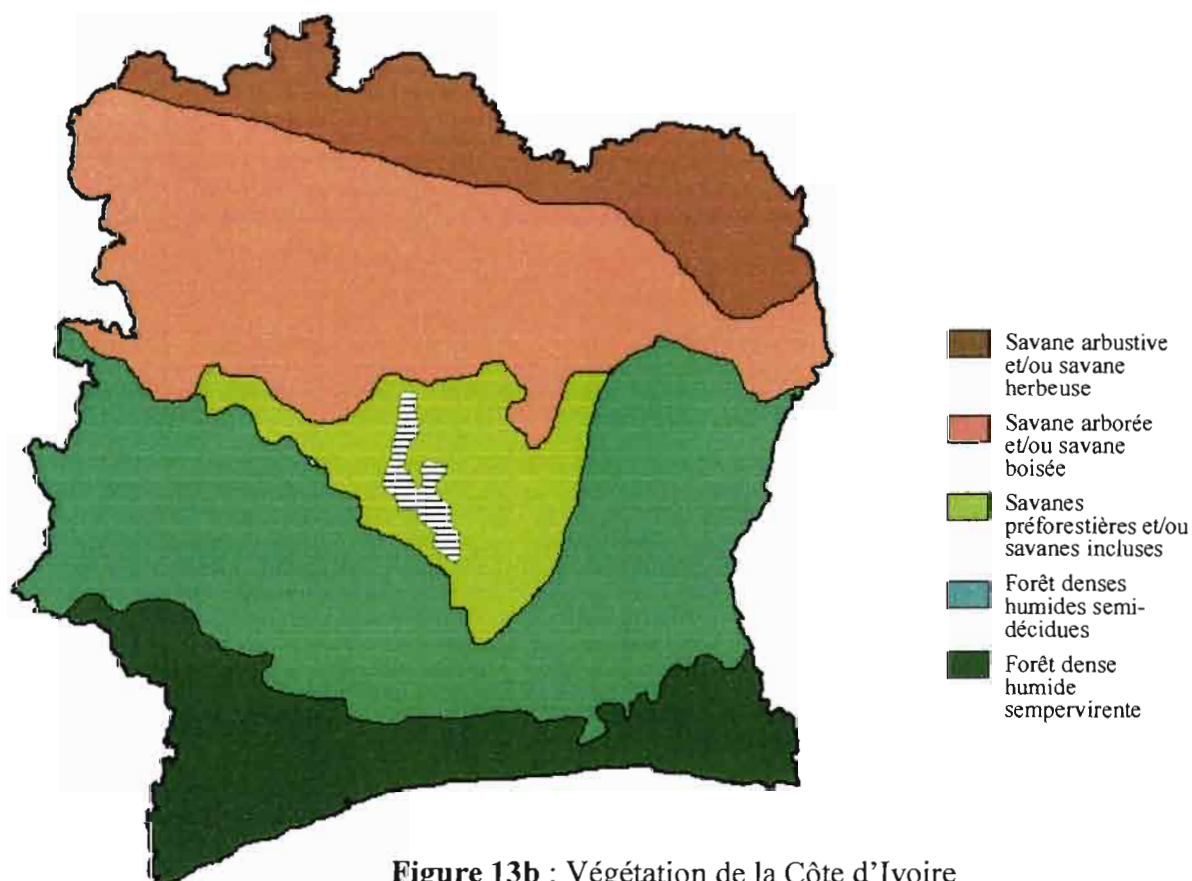


Figure 13b : Végétation de la Côte d'Ivoire

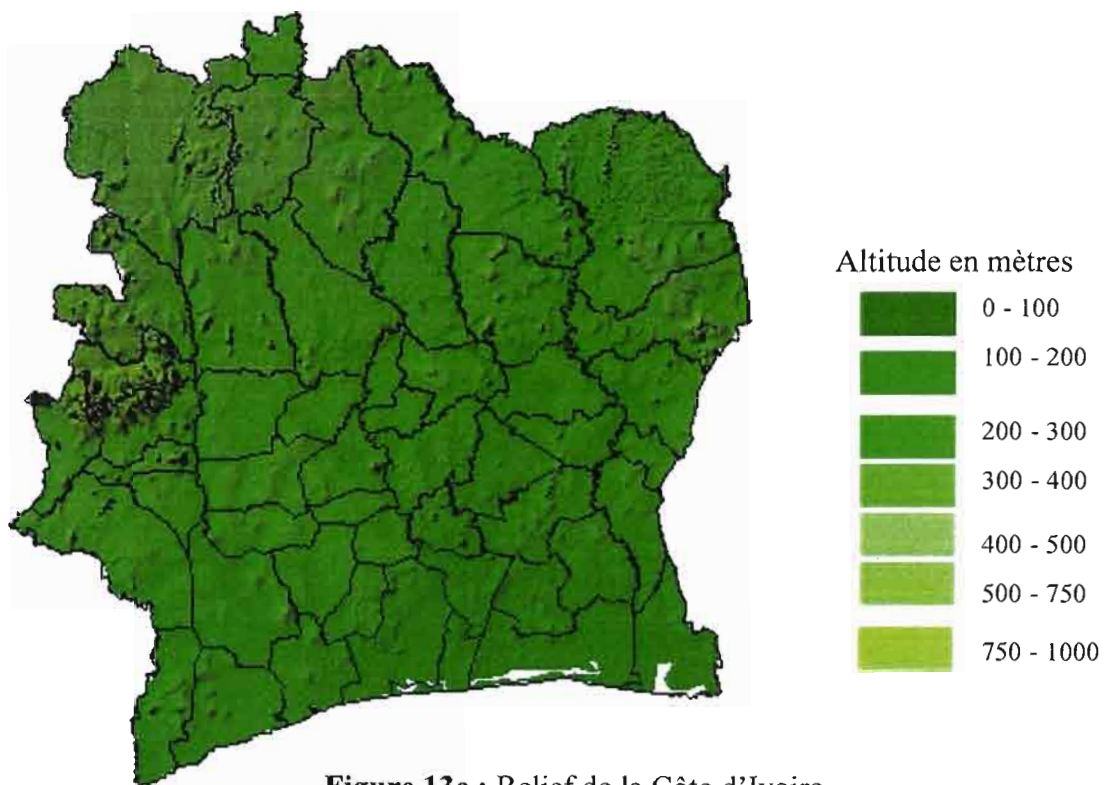


Figure 13c : Relief de la Côte d'Ivoire

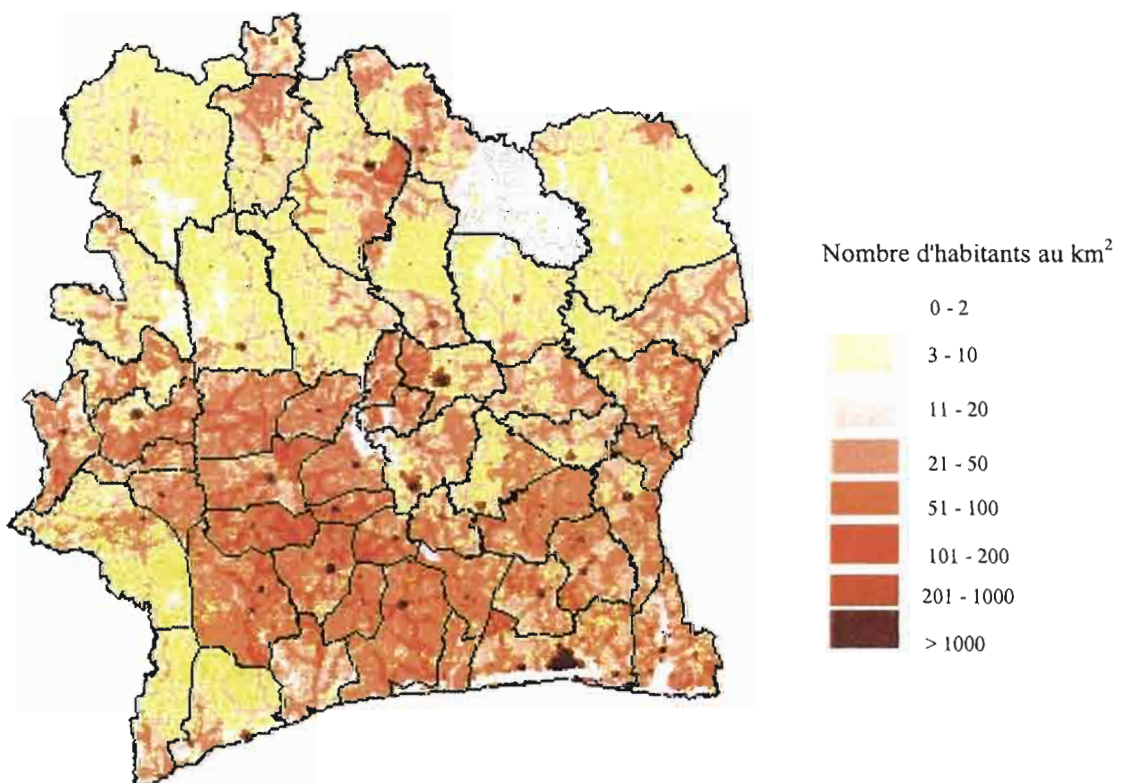


Figure 13d : Répartition de la population de la Côte d'Ivoire

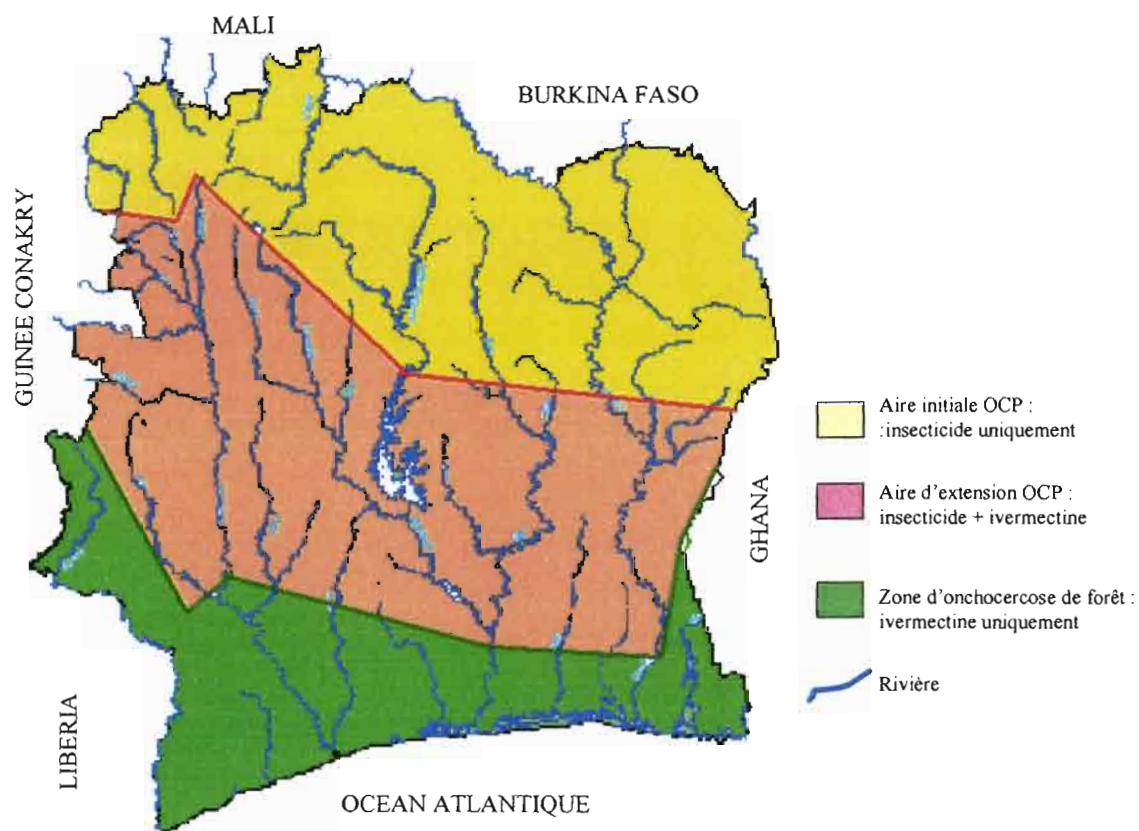


Figure 13 e : Cartographie des bassins fluviaux en fonction des stratégies de lutte contre l'onchocercose utilisées en Côte d'Ivoire

3. Méthodes de capture et d'identification des simulies et des onchocerques

3.1. Méthode de capture des simulies



Captureur en action



Collecte de l'insecte dans un tube à hémolyse

Illustration 3 : Capture des femelles de *S. damnosum s.l.* sur homme

Le mode de capture utilisé est la capture sur appât humain (Le Berre, 1966). La capture des simulies est basée sur l'activité de piqûre des femelles, uniquement diurne chez *S. damnosum*. Les piqûres sont exceptionnelles avant six heures et après le crépuscule. La température est le principal facteur limitant de l'activité de piqûre : au-delà d'un seuil de 35-37° C, les femelles piqueuses sont beaucoup moins nombreuses, ce qui se traduit par une courbe journalière d'agressivité montrant deux pics, l'un en matinée et l'autre en fin d'après midi (Philippon, 1977).

La technique de capture consiste à capturer, avant qu'elles ne piquent, toutes les simulies qui se posent sur les jambes dénudées d'un captureur assis à l'ombre en un point

déterminé et fixe, pendant leur période diurne d'activité ; pratiquement, une journée de capture dure de 7 heures à 18 heures sans interruption grâce à une rotation horaire entre deux captureurs. Le captureur collecte les simulies vivantes dans des tubes à hémolyse. Ces tubes sont enrobés de coton humide et conservés au frais (si possible dans une glacière) en vue de l'identification morphologique et la dissection. La capture normalisée sur homme a été la méthode d'échantillonnage de référence à l'OCP, car elle est la seule qui permette une mesure en temps réel de la transmission et le suivi longitudinal de celle-ci. Les autres méthodes (généralement de piégeage) ne permettent pas l'échantillonnage des populations piqueuses et n'ont été utilisées qu'occasionnellement pour des études particulières.

3.2. Méthode d'identification morphologique des simulies

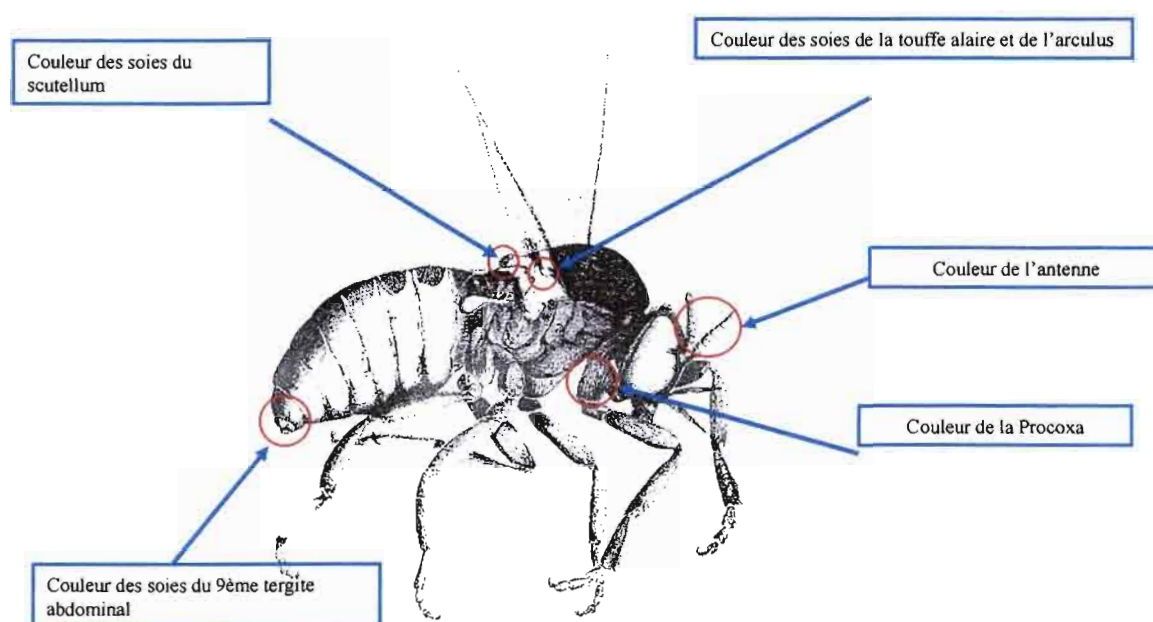


Illustration 4 : Critères d'identification morphologique de *S. damnosum s.l.*

La technique d'identification est basée sur l'examen de certains caractères morphologiques : la couleur de la procoxa et de l'antenne, la couleur de l'arcus et des soies de la touffe alaire, la couleur des soies du scutellum et la couleur des soies du neuvième tergite abdominal (illustration 4).

3.3 Méthode de détermination de l'âge physiologique

Les dissections normalisées de femelles de *S. damnosum s.l.* sont faites sur du matériel frais, conservé vivant, 24 heures au maximum après la capture ; les femelles sont tuées au chloroforme et disséquées dans de l'eau physiologique (eau distillée renfermant 9‰ de chlorure de sodium), à l'aide d'aiguilles montées et sous loupe binoculaire. L'abdomen est ouvert et l'examen des organes abdominaux (ovaires, tubes de Malpighi, corps gras) permet de déterminer l'âge physiologique, en l'occurrence la seule séparation entre femelles pares (ayant déjà effectué au moins une ponte, donc un cycle gonotrophique) et femelles nullipares en début de leur premier cycle gonotrophique et n'ayant donc encore ni mûri de ponte ni pondu). Les femelles pares peuvent être distinguées des nullipares par la présence de reliques folliculaires ovariennes, l'absence ou l'amenuisement du corps gras abdominal, l'éclaircissement relatif et le changement d'aspect des tubes de Malpighi (Lewis, 1958 ; Le Berre, 1966 ; Philippon, 1977).

3.4 Observation et collecte des larves évolutives d'*O. volvulus*

Les dissections de femelles permettent aussi d'observer et recenser les larves évolutives d'onchocerques qui parasitent les femelles piqueuses. Ces larves sont décomptées par stades : stades 1 microfilaires, stades 1 saucisses, stades 2, stades 3 dans les muscles thoraciques et stade L3 libres dans tout le corps, considérées comme infestantes. L'usage s'est établi à OCP de ne prendre en compte que les L3 céphaliques pour les calculs d'intensité de transmission. Lors des dissections, chaque fois que possible, les L3 céphaliques trouvées sont conservées à sec entre lame et lamelle (Toé et al., 1997) pour l'identification des espèces d'onchocerque, dont *O. volvulus* ; et pour cette dernière, les souches « savane » et « forêt », avec les outils de biologie moléculaire.

3.5. Les indices entomologiques de transmission

Deux indices sont établis à partir de ces dénombrements, selon des procédures standardisées : le taux annuel de piqûres (TAP) et le potentiel annuel de transmission (PAT) permettent de quantifier, en un point de capture et à un moment donnés, respectivement, la densité des simules piqueuses présentes et l'intensité de la transmission.

Taux annuel de piqûres

Le taux **mensuel** de piqûres (TMP) (ou MBR pour *Monthly Biting Rate* en anglais) représente le nombre total théorique de piqûres que recevrait mensuellement une personne exposée onze heures par jour près d'une rivière.

$$\text{MBR} = \frac{\text{nombre de simules capturées} \times \text{nombre de jours du mois}}{\text{Nombre de jours de captures}}$$

Le taux **annuel** de piqûres (TAP) (ou ABR pour *Annual Biting Rate* en anglais), est la somme des 12 taux mensuels de piqûres pour une année.

Potentiel annuel de transmission

Le potentiel **mensuel** de transmission (PMT) (ou MTP pour *Monthly Transmission Potential* en anglais) est une estimation théorique du nombre de larves d'*O. volvulus* que recevrait en un mois un sujet placé au point de capture dans les conditions décrites plus haut.

$$\text{MTP} = \frac{\text{MBR} \times \text{nombre total de larves d}'O. \text{volvulus au niveau de la tête de la simule}}{\text{Nombre de simules disséquées}}$$

Le potentiel **annuel** de transmission (PAT) (ou ATP pour *Annual Transmission Potential* en anglais) est la somme des 12 taux mensuels de transmission pour une année.

Le point de capture est choisi pour être représentatif de la situation la plus dangereuse qui prévaut dans un foyer, tout en étant à l'écart des zones de rassemblement des habitants. Par conséquent, TAP et PAT sont une surestimation de la situation réelle, car nul n'est soumis à une telle exposition et la population se meut dans un espace composite où ces indices varient considérablement d'un endroit à un autre (diminution avec l'éloignement du gîte et « dilution

» du nombre de piqûres avec la densité de peuplement). Les TAP se réfèrent en toute rigueur à des L3 morphologiquement indifférenciables d'*O. volvulus* alors qu'il est notoire que *S. damnosum* héberge des L3 d'autres espèces. D'où l'importance d'une identification précise des espèces d'onchocerques.

3.6. Identification moléculaire des simules et des onchocerques

Nous avons utilisé les outils moléculaires microsatellites disponibles pour étudier les populations savaniques de *S. damnosum s.l.* Les individus ont été caractérisés au niveau de quatre loci polymorphes grâce aux marqueurs développés par Dumas et al. (1998).

Nous avons également utilisé les techniques de biologie moléculaire pour identifier les larves infectantes et les microfilaires suivant un protocole expérimental comprenant trois étapes :

- une PCR, spécifique à toutes les espèces du genre *Onchocerca* grâce à des amorces dégénérées est réalisée sur chaque échantillon selon le protocole décrit par Unnasch & Meredith (1996) ;
- les produits d'amplification sont ensuite caractérisés par des hybridations moléculaires aux sondes spécifiques des espèces *O. volvulus* et *O. ochengi* selon le protocole décrit dans Zimmermann et al. (1993) ;
- les produits d'amplifications caractérisés comme *O. volvulus* sont testés avec les sondes spécifiques de la souche de forêt (Erttman et al. 1987) et celle de savane (Erttman et al. 1990)

4. Méthodes de diagnostic de l'onchocercose

4.1. La biopsie cutanée exsangue (BCE)



Pince emporte-pièce à sclérectomie de Holth



Prélèvement d'un fragment de peau à l'aide d'une pince emporte-pièce à sclérectomie de Holth

Illustration 5 : Instrument et méthode de prélèvement de fragments cutanés

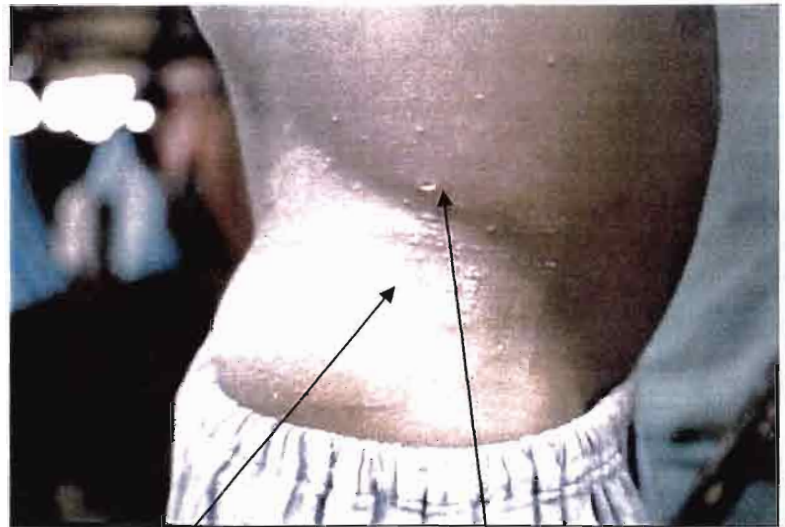
A l'aide d'une pince emporte-pièce calibrée (pince à sclérectomie de type Walser ou de type Holtz), un minuscule lambeau de peau (fragment ovalaire de 2mm sur 3mm) est prélevé de telle sorte que seul le sommet des papilles dermiques soit arasé (« skin-snip » des auteurs anglo- saxons). Seul est intéressé le derme superficiel et la biopsie est exsangue. Ce fragment cutané est déposé sur une lame porte-objet et recouvert d'une goutte d'eau distillée et on observe l'émergence des microfilaries, s'échappant du fragment de peau, à la loupe binoculaire ou au microscope à un faible grossissement (objectif x 20).

Dans le cadre des évaluations épidémiologiques de routine de l'OCP, la peau est d'abord désinfectée avec du coton imbibé d'alcool éthylique. La pince (type Holtz) préalablement stérilisée, permet le prélèvement de biopsies calibrées de 2.8 mg, et 6mm². Les biopsies sont ensuite incubées pendant 30 minutes dans de l'eau distillée, puis les microfilaries dénombrées sous une loupe binoculaire. Les biopsies négatives sont l'objet d'une deuxième lecture après 24 heures d'incubation dans une solution physiologique. Toutefois, il importe que les microfilaries recueillies soient distinguées de celles de *Mansonella streptocerca* dans les régions où la distribution de ce parasite se recouvre avec celle d'*O. volvulus*.

4.2. Le test du pansement à la diéthylcarbamazine « DEC patch test »



Test de pansement à la diéthylcarbamazine (DEC patch test)



Réaction positive au
« DEC patch test »

Trace après la pratique de
la biopsie cutanée

Illustration 6 : Application topique de la diéthylcarbamazine

Le test de pansement à la diéthylcarbamazine consiste à appliquer sur la peau du sujet, au niveau de la crête iliaque, un morceau de papier Whatman de grade 3, mesurant 2mm x 3mm, imbibé d'une solution de diéthylcarbamazine à 10% ou 20% dans un lait corporel hypoallergène à usage cosmétique. Le test positif est marqué par une « réaction de Mazzotti » localisée.

PREMIERE PARTIE :

Étude des mouvements migratoires simulidiens en Afrique de l'Ouest :
Implication épidémiologiques et intérêts pour la surveillance de l'onchocercose

**MOUVEMENTS MIGRATOIRES DE *SIMULIUM DAMNOSUM* S.L. SUR
L'AXE SIERRA LEONE-GUINÉE-MALI : ANALYSE DES DONNÉES
ENTOMOLOGIQUES ET PARASITOLOGIQUES DE 1977 À 2001.**

ADJAMI A.G., TOÉ L., SANFO M.S., YAMÉOGO L & BISSAN Y

Présentation synthétique de l'article

1. Objectifs :

Objectif général :

Mieux connaître et prévenir les risques de recrudescence de l'onchocercose du fait des migrations de simulies.

Objectifs spécifiques :

- Etudier les mouvements des simulies sur l'axe Sierra Leone-Guinée-Mali.
- Etudier l'impact de l'ivermectine sur la transmission par les simulies migrantes.
- Déterminer les proportions relatives des espèces d'onchocerques transmises par les simulies migrantes.

2. Matériels et méthodes

L'étude des mouvements des simulies a été réalisée par l'analyse des données entomologiques de l'OCP collectées entre 1977 et 2002, à Madina Diassa (Mali), Morigbédougou (Guinée) et Musaia (Sierra Leone). Les taux mensuels de piqûres, les indicateurs d'âge physiologique et d'infection par *Onchocerca volvulus* des femelles de *Simulium damnosum s.l.*, ont été analysés dans diverses situations entomo-épidémiologiques créées par les traitements insecticides.

L'impact de l'ivermectine sur la transmission a été étudié par l'analyse du taux d'infectivité des femelles migrantes.

Les espèces d'onchocerques transmises par les simulies migrantes ont été identifiées par les techniques de biologie moléculaires.

3. Résultats

Les résultats d'analyse suggèrent l'existence de mouvements de simulies le long du transect étudié. On peut distinguer deux mouvements saisonniers : de mai à septembre, un mouvement sud-ouest / nord-est à la faveur de la mousson ; et de janvier à mars, un mouvement nord-est / sud-ouest dans l'orientation de l'harmattan.

L'analyse des potentiels mensuels de transmission, ensemble avec les taux mensuels de piqûres, a montré un net synchronisme de ces deux paramètres, lors des migrations de mousson, aussi bien à Madina Diassa qu'à Morigbédougou. En revanche, la migration d'harmattan n'est pas associée à une transmission significative.

L'étude a montré que la distribution de l'ivermectine à grande échelle a permis une réduction importante du taux d'infectivité des femelles migrantes, phénomène observé à Madina Diassa avec la migration de mousson, montrant ainsi que la distribution de l'ivermectine au niveau des sources de migration permet une protection effective contre la transmission du parasite dans les zones ré-envahies.

L'identification des filaires chez les femelles infectieuses montre que *O. volvulus* ne représente que 16 % des L3 céphaliques identifiées. La migration de mousson étant principalement associée à la transmission d'*O. volvulus*, une surveillance particulière de cette migration est nécessaire.

4. Conclusions

Les mouvements migratoires des simules en Afrique de l'ouest occasionnent une dissémination du parasite. La distribution de l'ivermectine dans les foyers source protège les zones envahies de la transmission d' *O. volvulus*.

Mouvements migratoires de *Simulium damnosum* s.l. sur l'axe Sierra Leone-Guinée-Mali : Analyse des données entomologiques et parasitologiques de 1977 à 2001.

Résumé

Dans la plupart des pays de l'ex OCP (Onchocerciasis Control Programme), l'onchocercose n'est plus un problème de santé publique, mais les risques de recrudescence persistent. Les mouvements migratoires du vecteur constituent l'un des obstacles majeurs à cette élimination. Le présent article est une contribution à une meilleure connaissance de ces mouvements et de leurs conséquences sur l'épidémiologie de la maladie. L'étude a été réalisée entre les bassins du nord de la Sierra Leone, ceux de la Guinée et du sud-est du Mali.

L'analyse des taux mensuels de piqûre en relation avec des indicateurs d'âge physiologique et les périodes des traitements larvicides permettent de définir deux grands mouvements saisonniers : la migration de mousson, de mai à septembre, orientée sud-ouest / nord-est, initialement associée à une recrudescence saisonnière importante de transmission d'*O. volvulus* et celle liée à l'harmattan de janvier à mars, d'orientation nord-est / sud-ouest, surtout associée à la transmission d'onchocercques d'origine animale. La lutte anti-vectorielle et le traitement à l'ivermectine des populations humaines ont entraîné la chute des indices de transmission d'*O. volvulus* sur les bassins fluviaux étudiés.

Mots clefs : Mouvements migratoires, *Simulium damnosum* s.l. *Onchocerca volvulus*, onchocercques animales, Afrique de l'ouest.

Abstract

In most of the countries of ex OCP (Onchocerciasis Control Programme), onchocerciasis is no longer a problem of public health, but has not been eradicated and the risks of reoccurrence remain. The migratory movements of the vector constitute one of the major obstacles to this eradication. This article is a contribution to a better understanding of these movements and transmission of the parasite between the north of Sierra Leone, Guinea and Mali.

The analysis of the monthly biting rates in relation to indicators of physiological age and the periods of the larviciding make it possible to define two great seasonal movements : the monsoon migration, which takes place from May to September, is directed south-western/north-eastern and was initially associated with an important recrudescence of transmission of *O. volvulus*, and the harmattan migration, which take place from January to March, with north-eastern/south-western orientation, and is especially associated with the transmission of *Onchocerca* genus spp worm of animal origin. Both vector control operations and ivermectin treatments resulted in the fall of *O. volvulus* indices of transmission in river basins studied.

Key words: Migratory movements, *Simulium damnosum* s.l., *Onchocerca volvulus*, other *Onchocerca* species, West Africa.

1. INTRODUCTION

Le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP) a été actif pendant près de trois décennies (1974-2002). Son objectif principal, l'élimination de l'onchocercose en tant que problème de santé publique et d'importance économique, a été largement atteint dans l'ensemble de l'aire du programme à l'exception de la Sierra Leone. A la clôture d'OCP, la disparition des signes cliniques de la maladie dans la population était patente (Boatin et al., 1997). Cependant, l'objectif du programme n'ayant pas visé l'éradication du parasite (*Onchocerca volvulus*) et de son vecteur (*Simulium damnosum s.l.*), des facteurs de risque de recrudescence de la maladie existent. Ce risque est lié à la persistance de certains foyers, comme en Sierra Leone, où les traitements ont été interrompus après cinq années par la guerre civile ; ce risque est également lié à un retour ou une augmentation des populations de vecteurs consécutifs à l'arrêt des épandages de larvicides, rendant possible une dissémination du parasite par les mouvements de simules de grandes amplitudes. La capacité du vecteur à se déplacer sur de grandes distances, constitue ainsi l'un des obstacles majeurs à l'élimination de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, que se soit avec la lutte anti-vectorielle ou même l'ivermectine, l'outil actuel de lutte (Dadzie et al., 2003). Dans le souci de maintenir les acquis de l'OCP et pour une maîtrise durable de la maladie, une surveillance rigoureuse tenant compte des déplacements aériens du vecteur s'impose.

Déjà, en 1974, au lancement de l'OCP, ce facteur a été déterminant dans la définition de l'aire d'exécution du programme. En effet, contrairement aux projets antérieurs de lutte contre l'onchocercose réalisés à des échelles plus réduites dans certains bassins fluviaux de l'Afrique de l'Ouest (Philippon & Sékétéli, 1998), l'OCP a été exécuté dans son aire initiale de 654 000 km². Les premières opérations de lutte ont montré que l'aire initiale, malgré son étendue, était sous-dimensionnée car des simules d'espèces savaniques migrantes issues des zones non traitées pouvaient réinfester les zones sous traitements larvicides (Le Berre, 1990). Ce phénomène connu sous le nom de ré-invasion, a été à la base des extensions mises en place progressivement entre 1978 et 1990. Plusieurs travaux ont permis de décrire de manière détaillée ce phénomène de ré-invasion (Baldry et al., 1985 ; Baker et al., 1986, 1987, 1990).

La plupart des études menées se sont intéressées aux données relatives aux extensions de l'OCP. Cette étude fait une analyse globale des mouvements simulidiens et de leurs conséquences épidémiologiques en terme de transmission du parasite sur une période plus longue et prenant en compte les identifications des parasites. L'objectif général de cette approche

est de mieux connaître et prévenir les risques de recrudescence du fait des migrations de simulies. Il s'agit de façon spécifique : i) d'étudier les mouvements des simulies par l'analyse des densités de piqûres et intensités de transmission dans diverses situations entomo-épidémiologiques créées par les traitements insecticides ; ii) d'étudier l'impact de l'ivermectine sur la transmission par les simulies de ré-invasion.

2. MATERIEL ET METHODE

Principe de l'étude

Le déploiement progressif et successif des opérations de lutte dans les zones d'extension du programme OCP du centre vers la périphérie (du Mali vers la Guinée puis la Sierra Leone), a créé un décalage chronologique du début et de la fin des traitements larvicides d'un foyer à l'autre et par rapport à l'aire de l'OCP. L'hétérogénéité de cette situation permet de comparer d'une part les fluctuations des densités simulidiennes entre les points, en présence et en absence de la pression larvicide, et d'autre part, d'observer l'influence que pourrait avoir un foyer donné sur un autre le long de cet axe. Elle a été mise à profit pour étudier les mouvements de simulies le long d'un axe de migration Sierra Leone- Guinée- Mali.

Présentation générale de la zone d'étude

La zone étudiée part de la bordure atlantique à l'ouest de la Sierra Leone, traverse la haute Guinée dans la direction sud / nord et s'étend jusqu'au sud-est du Mali (figure 1). Le réseau hydrographique très dense, surtout en Guinée et en Sierra Leone, fournit un écosystème favorable au développement du vecteur. Le climat dans la zone d'étude est de type tropical avec deux saisons (sèche et humide), dont l'alternance est due à l'oscillation interannuelle de la Zone de Convergence Inter Tropicale (ZCIT). Une localité dans la zone d'étude est en période sèche ou pluvieuse lorsque La ZCIT se trouve respectivement au sud ou au nord de cette localité. La durée relative des saisons et l'abondance des précipitations permettent de définir un climat tropical humide dans la partie sud de la zone d'étude, où la saison pluvieuse s'étend d'avril à novembre, avec une pluviosité annuelle d'environ 3800 mm ; et un climat tropical sec dans le nord de cette zone, dont la saison pluvieuse se limite de juin à septembre, avec une pluviosité annuelle n'excédant pas 1000 mm. La répartition des types de végétation dans la zone d'étude est fonction des différents faciès climatiques. On observe successivement du sud-ouest vers le nord-est, les mangroves occupant les zones marécageuses du littoral sierra léonais ; une mosaïque de

forêts denses regroupée en quelques îlots isolés, de forêt dégradée et de savane depuis la Sierra Leone jusqu'en haute Guinée ; une savane boisée et une savane à strate herbacée continue respectivement dans les zones soudano-guinéenne et soudanienne du Mali. D'une manière générale, la déforestation dans la zone (coupes de bois, pratique de la culture sur brûlis, extension de zones de pâturages du bétail, exploitation de bois précieux) a conduit à l'expansion des savanes sèches.

Le relief apparaît relativement contrasté dans la zone d'étude. La côte atlantique, peu élevée, fait place à une vaste plaine littorale qui s'étend sur une centaine de kilomètres vers l'intérieur. Puis, le terrain s'élève jusqu'au plateau granitique du nord du pays, où domine le mont Loma avec 1948 mètres d'altitude. La partie guinéenne de la zone d'étude a un relief peu marqué, avec des pénéplaines d'altitude moyenne de 500 mètres, encadrées entre les deux chaînes de montagne du Fouta Djallon et de la dorsale guinéenne. Enfin, on observe sur le territoire malien, une extension du Fouta Djallon Guinéen, laquelle forme à proximité de Bamako, les plateaux mandingues qui s'élèvent au-dessus de 760 mètres.

Présentation des points de collecte des simules et chronologie des traitements larvicides

L'étude des mouvements migratoires de *S. damnosum s.l.* a été réalisée en trois points de collecte des simules : Musaia (09°76' N et 11°58' W) situé au nord de la Sierra Leone sur la rivière Mongo, à la frontière avec la Guinée ; Morigbédougou (10°10' N et 09°43' W) situé en haute Guinée sur le Milo et Madina Diassa (10°83' N et 7°63' W) situé au sud-est du Mali sur la rivière Baoulé (figure 2). Pour mieux comprendre et interpréter les résultats entomologiques ci-dessous, la figure 2 présente la chronologie des traitements larvicides dans la zone d'étude, exécutée dans le cadre de l'OCP. Il est important de signaler qu'avant le lancement de l'OCP, seul le Banifing IV, qui faisait partie du foyer de Farako, a été l'objet de campagnes larvicides anti-vectorielles (de 1962 à 1965 inclus et de 1966 à 1974 inclus) exécutées par des équipes OCCGE-ORSTOM. Enfin, en tenant compte des deux grandes directions des vents dominants (sud-ouest / nord-est pour ceux de la mousson, nord-est / sud-ouest pour ceux du temps d'harmattan), il apparaît nettement pour chaque point de collecte, quels bassins fluviaux sont par rapport à lui "au vent" (bassins susceptibles d'envoyer des simules au point de collecte).

Méthode de collecte des échantillons

Les échantillons de vecteurs sont constitués de femelles de *S. damnosum s.l.* obtenues par la technique de capture standardisée sur appât humain (Le Berre, 1966 ; Philippon, 1977). Les échantillons de parasites sont constitués de larves infectantes d'onchocerques récoltées lors de la dissection des simules selon la technique de Lewis (Lewis & Marr, 1963), puis conservées à sec entre lame et lamelle (Toé et al. 1997). Ce matériel biologique a été récolté à l'occasion des activités de surveillance entomologique de l'OCP de 1977 à 2001.

Méthode d'identification des parasites

Les larves infectantes¹ d'onchocerques, initialement conservées à sec entre lame et lamelle, ont été analysées individuellement (un maximum deux larves analysées, quand une simule en contenait plus). Le parasite est préalablement réhydraté dans 25 µl de tampon TE (10mM Tris-HCl, pH 8 + 1mM EDTA), et transféré dans un tube Eppendorf de 1.5 ml, contenant 25 µl de tampon TE, à l'aide d'aiguilles montées et sous microscope. L'ADN du parasite est extrait par incubation de l'échantillon de parasite dans 100µg/ml de protéinase K (Amresco, Solon, OH) à 56°C pendant une heure, puis dans 20 mM de dithiothreitol (DTT) à 95°C pendant 30 minutes, suivie par trois séries de gel/dégel. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 14000g pendant une minute, mis à sécher sous vide et remis en suspension dans 100µl de tampon TE. L'ADN du parasite ainsi extrait, est purifié sur poudre de verre selon le protocole décrit par Meredith et al. (1991). Une séquence d'ADN génomique de longueur 150 pb, caractéristique des onchocerques et dénommée « O-150 », est amplifiée par PCR et les produits d'amplification sont détectés par des sondes oligonucléotidiques qui permettent l'identification spécifique d'*O. volvulus* et *O. ochengi* et, au niveau subsppécifique, des souches d'*O. volvulus* (Ertman et al., 1987, 1990 ; Meredith et al., 1991 ; Zimmerman et al, 1993).

Les parasites ont été aussi détectés et identifiés dans des broyats de lots de têtes de simules (pools screening), pour l'estimation des taux d'infectivité des populations vectorielles. Les têtes de simules ont été d'abord isolées du corps de l'insecte, groupées en lots de 100 et broyées dans 100 µl d'homogénat contenant 10mM Tris-HCl (pH 8), 1mM EDTA, 50µg/ml RNase A, et 25 µg/ml protéinase K. A l'instar des larves individuelles, l'homogénat est successivement soumis à l'action du DTT, d'une série de gel et de dégel et l'ADN parasitaire purifié sur de la poudre de verre selon le protocole décrit dans Katholi et al. (1995). L'ADN ainsi extrait sert de matrice pour l'identification d'*O. volvulus* selon le protocole ci-dessus décrit.

Indices entomologiques

Afin de montrer l'influence des traitements larvicides d'un site donné sur les productions simulidiennes dans les autres sites et l'impact de la lutte antivectorielle sur la transmission de l'onchocercose, deux indices entomologiques ont été utilisés (Walsh et al., 1978):

- a. MBR (*Monthly Biting Rate*, ou Taux Mensuel de Piqûre)

$$\text{MBR} = \frac{\text{nombre de simules capturées} \times \text{nombre de jours du mois}}{\text{Nombre de jours de captures}}$$

- b. MTP (*Monthly Transmission Potential*, ou potentiel annuel de transmission)

$$\text{MTP} = \frac{\text{MBR} \times \text{nombre total de larves d'O. volvulus au niveau de la tête de la simule}}{\text{Nombre de simules disséquées}}$$

Le MBR traduit la densité de piqûre en un point donné, et autorise des comparaisons entre sites ou entre périodes sur un même site, dans un même type de foyer. Cet indice, basé sur une journée de capture hebdomadaire (soit quatre captures mensuelles), permet également d'estimer l'ABR (*Annual Biting Rate*, ou taux annuel de piqûre), ce dernier étant la somme des 12 MBR pour une année. L'indice MTP permet de mesurer la quantité de transmission et d'estimer l'ATP (*Annual Transmission Potential*, ou potentiel annuel de transmission).

Couplés au MBR, les indicateurs d'âge physiologique et les infections par les onchocerques (lorsque les données étaient disponibles) ont été utilisés pour analyser l'origine (autochtone ou migrante) des simules. En effet, la plupart des travaux portant sur l'étude des mouvements simulidiens ont montré que les populations migrantes sont vieilles, caractérisées par un taux extrêmement élevé de femelles pares et porteuses de larves infectantes (au troisième stade céphalique) d'onchocerques (Le Berre, 1966 ; Philippon 1977 ; Garms et al., 1977). Aussi, l'analyse du rapport infectieuses²/infectées³ donne une indication sur l'âge moyen des pares,

¹ La larve infectante est une larve de stade 3 chez le vecteur, prête à être transmise à nouvel hôte.

² La femelle de simule est dite infectieuse lorsqu'elle héberge des larves infectantes (stade 3).

³ La femelle de simule est dite infectée lorsqu'elle héberge des larves de stades 1, 2 ou 3.

d'autant plus élevé que ce rapport est élevé (au plus égal à 1), car la femelle de similie au stade infectieux (porteuse de parasite de stade infestant) a déjà accompli au moins trois cycles gonotrophiques (Garms et al. 1977). De ce qui précède, on déduit que :

- une population à dominante modérée de pares est généralement autochtone,
- une population à haute dominante de pares et au rapport infectieuses / infectées élevé est probablement migrante.

La détermination de l'âge physiologique des femelles a été basée sur l'examen des ovaires, la recherche de reliques folliculaires et du corps gras abdominal. Chez les femelles nullipares, les ovaires sont plutôt clairs et ont tendance à se casser quand ils sont étirés avec des aiguilles de dissection. Ces femelles ont un corps gras abdominal et n'ont pas de reliques folliculaires. Chez les femelles pares, la plupart des ovaires apparaissent jaunâtres et peuvent être étirées sans se casser, les reliques folliculaires sont présentes, tandis que le corps gras abdominal est généralement absent ou très amenuisé s'il est présent (Philippon, 1977).

Le taux d'infectivité (nombre de femelles infectieuses pour 1000 femelles pares), est l'indice entomologique utilisé pour mesurer l'impact des traitements anti-parasitaires sur la transmission d'*O. volvulus*.

Données hydrologiques

Elles sont issues des banques de données hydrologiques de l'OCP. Les hauteurs d'eau des rivières ont été établies, soit par des lectures d'échelles de crue étalonnées, soit par des mesures limnimétriques automatiques grâce à des balises hydrologiques permettant une transmission des données en temps réel par satellite. Les débits des rivières sont ensuite calculés sur la base de barèmes.

3. RESULTATS

Migrations simulidiennes et transmission d'*O. volvulus*

Les mouvements migratoires des similies ont été mis en évidence par l'analyse comparative des variations des MBR et des indicateurs d'âge physiologique et d'infection à *O. volvulus*

respectivement à Madina Diassa, Morigbédougou et Musaia, pendant les saisons sèche et humide.

Madina Diassa

L'analyse des fluctuations des MBR de 1976 à 1994 fait apparaître différents profils selon la chronologie des opérations des traitements larvicides sur les bassins fluviaux qui sont, par rapport à ce point, situés "au vent" en considérant la migration de mousson et celle liée au vent d'harmattan.

Le profil des courbes des MBR avant le début des traitements larvicides d'OCP (août 1976 à mars 1977) se caractérise par un pic au mois de novembre 1976 et un autre pic d'égale intensité au mois de mars 1977 (figures 3a et 3b). Ces pics de saison sèche ont disparu dès avril 1977 (figures 3b et 3c), disparition coïncidant avec le début des traitements larvicides en 1977 des rivières Baoulé, Bagoé et Kankélaba (aires 4 et 5 de la figure 2). L'ensemble de ces bassins fluviaux ayant été mis sous traitement larvicide simultanément, les données ne permettent pas d'attribuer ces pics de saison sèche à une production locale à Madina Diassa ou exogène. De plus, le rapport femelles pares / femelles disséquées supérieur à 0,90 suggère qu'il s'agissait de populations vieilles et présumées migrantes. En revanche, la période de 1977 à 1986 est caractérisée par un pic au mois de juin, persistant malgré la pression larvicide. Ce pic est caractérisé par un taux de parturité très élevé, avoisinant 100%. La disparition de ce pic coïncide avec les traitements larvicides de l'extension ouest sur le haut Niger en Guinée : traitements anti-ré-invasion d'avril à juillet en 1987 et en 1988 sur le haut Niger en Guinée, et traitements ininterrompus à partir de mars 1989 sur ce bassin (aire 2 de la figure 2). On observe la réapparition du pic de saison sèche en février 1986 (figure 3d). Ce pic s'explique par de fortes perturbations des opérations larvicides, dues à l'apparition pour la première fois de la résistance des simules savaniques au téméphos. Cela s'est traduit par des suspensions involontaires ou délibérées et des retards de traitement dans la plupart des bassins fluviaux du Mali. Les taux mensuels de parturité relativement faibles indiquent une production locale probable.

On note une absence de pic marqué, en toutes saisons, durant la période la période 1987-1991 (figure 3e). Cela serait dû à la pression insecticide exercée simultanément sur les bassins fluviaux de Sierra Leone, de Guinée et du Mali, et constitue une preuve de l'efficacité globale des traitements larvicides d'OCP et surtout de son extension ouest.

En revanche, on note à nouveau une réapparition du pic de saison sèche (mois de février) les années 1992, 1993 et 1994, alors que l'écoulement de la rivière est très faible voire nul (figures 3f, 3g, 3h). Ce pic de février coïncide avec l'arrêt des traitements larvicides sur le Banifing IV (situé au vent par rapport à Madina Diassa, en saison d'harmattan) en 1991. Madina Diassa étant sous traitement larvicide, et en absence d'échecs de traitements prolongés, ce pic n'est vraisemblablement pas le produit d'une production locale. Les valeurs élevées des rapports femelles pares / femelles disséquées (supérieures à 0.8) et femelles infectieuses / femelles infectées (égale à l'unité) indiquent qu'il s'agit de populations vieilles et probablement migrantes (migration d'harmattan).

Afin d'évaluer à Madina Diassa le risque épidémiologique lié à ces migrations, les fluctuations des MTP ont été analysées. On note ainsi, pour la période 1977-1986, une forte corrélation entre les MTP et les MBR : pics marqués de saison des pluies de la période 1977-1986 (figures 3b, 3c & 3d) pour les deux paramètres, MTP et MBR, tous deux continûment très faibles durant la période 1987-1991 (figure 3e). On en déduit que, tant que la zone initiale d'OCP était bien traitée, Madina Diassa était protégé de la ré-invasion d'harmattan mais pas de celle de mousson. La protection contre cette dernière (contre les piqûres et la transmission) fut en revanche assurée quand les bassins fluviaux de la Guinée furent mis sous traitement, comme le montre l'évolution des ATP et des ABR à Madina Diassa (figure 4). En revanche, cette observation ne se vérifie plus pour la période 1992-1994 (figures 3f, 3g & 3h) : les pics de MBR de saison sèche, réapparus quand le Banifing IV n'a plus été traité, ne sont pas associés à une augmentation sensible des MTP à la même saison. Les ATP maintenus dans la limite de tolérabilité (inférieurs à 100) (figure 4), indiquent la neutralisation du réservoir de parasite de ce bassin en 15 ans.

Morigbédougou

A Morigbédougou, la courbe de variation des MBR montre, comme à Madina Diassa, un pic de saison sèche et (ou) un pic de saison humide selon les opérations de traitement larvicide. La période de pré-contrôle, 1986, est marquée par un pic aux mois de mai à juillet (figure 5a). Au regard des valeurs du rapport femelles pares / femelles disséquées des mois de mai (0.9), juin (0.8) et juillet (0.7), ce pic est probablement le produit d'une population migrante qui, insensiblement fait place (ou se mélange) à une production locale de simules de hautes eaux. Les traitements anti-ré-invasions de 1987 et de 1988, et la phase d'attaque à partir de 1989 ont

contribué à réduire l'intensité de ce pic (figures 5b, 5c), puis l'ont supprimé dans la plupart des cas (figures 5d à 5k, 5m, 5o). Les rares pics de MBR de mai juillet qui sont décelables, sont probablement dus, selon l'âge physiologique de ces simulies, soit à une production locale (figures 5g, 5j et 5p), soit à une ré-invasion à partir de la Sierra Leone (figure 5 l).

Un pic de saison sèche (mois de janvier mars) a existé en ce point avant les traitements larvicides (figures 5). Ce gîte à simulies n'étant pas productif en saison sèche (données OCP), les sources de cette invasion d'harmattan pourraient se situer au niveau des rapides de Tienfala sur le fleuve Niger, situés au vent de Morigbédougou, à environ 30 km à l'est de Bamako (Figure 2). Ces rapides, gros gîtes à *S. damnosum s.l.*, ont été irrégulièrement traités aux larvicides (données OCP).

L'examen des MTP à Morigbédougou corrobore pour la période 1986-1988 (figures 5a, 5b, 5c), le synchronisme avec les MBR observé à Madina Diassa pour la période 1978-1986. A partir de 1989, l'absence de pic en période de mousson semble indiquer une absence de migration de mousson venue du haut Niger en Guinée et en Sierra Leone (figures 5d-5p). De même, les pics de MBR de saison sèche ne sont pas associés à des valeurs élevées de MTP à la même période, ces dernières restant basses pendant toute l'année. On en déduit qu'à partir de 1989, il n'existe aucun risque épidémiologique lié à ces migrations comme le montrent les valeurs des ATP inférieurs à 100 (figure 6).

Musaia

A Musaia, pendant toute la période 1989-1997, les MBR sont en toutes saisons beaucoup plus faibles que ceux observés à Madina Diassa et Morigbédougou (figures 5a à 5i). D'une manière générale, les valeurs du rapport femelles pares / femelles disséquées indiquent que les populations de simulies pour cette période sont constituées d'une proportion faible ou à dominante modérée de pares. Il s'agit probablement de populations mixtes, dispersives et autochtones. Toutefois, il est important de souligner que les captures de simulies et les traitements larvicides dans la période 1994 - 1997 ont été très perturbés à cause de la guerre civile. Les données entomologiques sont donc à exploiter avec prudence.

L'analyse des MTP pour la période 1989-1994 indique globalement, que les faibles niveaux de MBR observés sur ce point, sont associés à un très faible niveau de transmission,

exception faite de novembre 1990 (figure 5b). Pour la période 1995-1997, les valeurs plus élevées de MBR observées en saison sèche comme en saison des pluies (peut être en relation avec la dégradation des traitements larvicides) ne correspondent pas à des MTP significativement plus élevés qu'en 1989-1994. L'évolution des ATP en ce point (figure 8), confirme les observations précédentes.

Impact de l'ivermectine sur la transmission

Parallèlement à la lutte anti-vectorielle, à partir de 1988/1989, l'ivermectine a été distribuée à grande échelle en Sierra Leone et en Guinée. Afin d'étudier l'impact de ce médicament sur la transmission d'*O. volvulus* par les simulies migrantes dans l'aire initiale d'OCP, nous avons analysé les fluctuations du taux d'infectivité des simulies à Madina Diassa de 1977 à 1994. L'ivermectine n'ayant pas été distribuée en ce point, tout comme sur l'ensemble de la rivière Baoulé (Figure 2), pendant la période considérée.

D'une manière générale, l'évolution du taux d'infectivité des simulies (par les espèces d'onchocerce) diffère selon qu'il s'agit de la migration de mousson ou celle d'harmattan (figure 9). La courbe correspondant à la période de mousson est caractérisée par deux chutes bien marquées : une première en 1979 où le taux d'infectivité est passé de plus 5% à environ 2% de femelles pares infectieuses ; chute brutale liée aux opérations de traitements larvicides sur la Baoulé commencées en mars 1977 (figure 2) ; la seconde observée en 1988 où le taux d'infectivité régresse de 1.75% (en 1988) à 0.25% de femelles pares infectieuses (en 1990), soit plus de 86% de réduction en deux années. Il est important de souligner que 1988 est le début de la distribution de l'ivermectine à grande échelle dans les extensions ouest, avec pour cette même année, deux cycles de distribution (avril et novembre) sur le bassin du Milo en Guinée, qui ont contribué à la chute du taux d'infectivité.

La courbe de l'évolution des taux d'infectivité associée à la migration d'harmattan est, exception faites des pics de 1982 et 1985 dus à des perturbations des opérations de traitements larvicides, caractérisée par des valeurs faibles, voire nulles.

Identification des filaires

S. damnosum s.l. est le vecteur de l'onchocercue *O. volvulus*, parasite de l'homme. Mais ce vecteur peut également héberger d'autres espèces d'onchocercues. Dans le but de déterminer les proportions relatives des espèces d'onchocercues transmises par les simulies migrantes, nous avons analysé les résultats d'identification des larves infectantes par les sondes d'ADN. Seuls les parasites collectés à partir de 1992 ont été pris en compte, du fait de l'indisponibilité des outils moléculaires avant cette date à l'OCP.

Identification des espèces d'onchocercue

De l'identification des espèces d'*Onchocerca sp.*, il ressort qu'*O. volvulus* représente près des deux tiers de la transmission à Morigbédougou et Musaia, contre seulement 10% à Madina Diassa (tableau 1). Ce dernier point était un foyer hyperendémique d'onchocercose humaine avant OCP, ainsi qu'une zone d'élevage (vaste ranch) et de gibier, renfermant par conséquent des animaux susceptibles d'être des réservoirs naturels de diverses espèces d'onchocercues. Cette prédominance des femelles infectieuses parasitées par d'autres espèces d'onchocercues s'observe pour toutes les périodes de l'année à partir de 1992 (figure 10a).

L'analyse des variations mensuelles de femelles infectieuses parasitées par *O. volvulus*, montre qu'à Madina Diassa, le plus grand nombre se rencontre surtout pendant la migration de mousson (mois de juin) (figure 10a), mais que ces dernières, en proportions inférieures à 0,05 % à partir de 1995 (figure 10b), représentent un faible risque de transmission.

A Morigbédougou en revanche, on observe un schéma différent. Les variations mensuelles du nombre des femelles infectieuses (brutes et avec *O. volvulus*) sont étroitement corrélées (figure 11a). De même, à partir de 1993, les courbes de l'évolution des pourcentages de femelles infectieuses (brutes et avec *O. volvulus*) sont synchrones. Ces observations montrent qu'en ce point, le parasite transmis est majoritairement *O. volvulus*. Toutefois, avec un pourcentage de femelles infectieuses inférieur à 0,05% à partir de 1998, la transmission d'*O. volvulus* ne représente aucun risque épidémiologique (figure 11b).

L'identification des souches parasitaires a mis en évidence, sur 29 femelles (15, 9 et 5 femelles respectivement à Madina Diassa, Morigbédougou et Musaia) porteuses de larves céphaliques d'*O. volvulus* trouvées pendant la période 1992-2001, un seul cas de femelle

infectieuse parasitée par la souche de forêt d'*O. volvulus* (femelle du groupe de savane, capturée à Morigbédougou), et 28 femelles parasitées par la souche de savane.

4. DISCUSSION

Les mouvements migratoires de simulies

En générale, les études de migration des insectes sont basées sur leur marquage et des identifications de populations de référence. En absence de marquage et de populations de référence, l'étude s'est basée sur l'analyse des fluctuations des densités de piqûres, en fonction des traitements larvicides et des saisons. Ces fluctuations sont estimées par le MBR. En un point donné, cet indice reflète à la fois, la production pré-imaginale locale et les contributions exogènes issues des migrations de simulies. L'origine des femelles a été appréciée d'après leur âge physiologique et les infections par *O. volvulus*, pour minimiser les biais de comparaison et d'interprétation des MTP.

L'âge physiologique élevé des femelles migrantes, a été attesté par plusieurs travaux qui ont porté sur les migrations de *S. damnosum* en Afrique de l'ouest (Philippon 1977 ; Garms et al., 1977; Baldry et al., 1985 ; Baker et al., 1986). Il se traduit par une quasi absence de graisse abdominale, des tubes de Malpighi très minces et complètement translucides et la présence de nombreux oeufs résiduels ; les femelles sont souvent gravides, ce qui n'est pas en soi un critère de grand âge s'il n'est pas accompagné des critères précédents. La fiabilité statistique de ces caractères est attestée par le fait que la fréquence des femelles décrites ci-dessus augmente près des gîtes quand la productivité de ceux-ci s'éteint progressivement (décrue et étiage ou lutte insecticide). Mais alors que dans ce cas les populations locales sont numériquement faibles et en régression, les femelles migrantes arrivent par vagues avec des effectifs hors de proportion avec ceux des populations locales (Dr Philippon, commentaires personnels). Renz & Wenk (1987) ont estimé dans un gîte productif de *S. damnosum* s.l. que le taux moyen de femelles paires dans la population totale des femelles est légèrement supérieur à 50%. Des proportions élevées de femelles paires seraient par conséquent indicatrices soit d'une immigration de simulies, soit de population en extinction. Toutefois, cela n'exclut pas que les pics de captures peuvent être mixtes, d'où le recours au rapport infectieuses/infectées, dont l'intérêt est précisément de donner une indication sur l'âge moyen des paires. Garms et al. (1979) ont en effet montré que chez les simulies migrantes, le nombre de femelles infectées par le troisième stade larvaire du parasite est

significativement plus élevé que celui des femelles infectées par le premier et le deuxième stade larvaire.

Les taux mensuels de piqûres, les indicateurs d'âge physiologique et d'infection par *O. volvulus* des femelles, les périodes de traitement larvicide sur les différents bassins de la zone d'étude, ont été utilisés pour mettre en évidence les mouvements des simules. Ces données, en rapport avec les saisons de l'année, confirment l'existence de mouvements de simules le long d'un axe de migration contenant ces points. En effet, à Madina Diassa, les traitements des bassins de l'extension ouest en Guinée et en Sierra Leone, bassins fluviaux situés à l'ouest de ce point et au vent de la mousson orientée sud-ouest / nord-est, ont coïncidé avec la suppression du pic de saison des pluies. Ce pic semble être le produit d'une ré-invasion de mousson, hypothèse renforcée par la période du pic (première moitié des saisons des pluies) et l'âge physiologique élevé des femelles. La réapparition du pic de saison sèche dès 1992, coïncide avec l'arrêt des traitements sur le Banifing IV en 1991, bassin au vent d'harmattan orienté nord-est / sud-ouest. Cette hypothèse est également confortée par la période de ce pic (saison sèche), l'efficacité des traitements larvicides à ce point (données OCP), les valeurs élevées des rapports femelles pares / femelles disséquées et femelles infectieuses / femelles infectées.

A Morigbédougou, les données pré-contrôle militent également en faveur d'une migration de mousson, pour expliquer le pic de mai 1986 (figure 4a). Ce pic de mousson a progressivement disparu avec les traitements des bassins guinéens et sierra léonais. Les pics de saison sèche de la période 1986-1990 semblent être liés à une production endogène, les traitements larvicides ayant ciblé au départ les périodes de ré-invasion. Comme observé à Madina Diassa à partir de 1992, les pics de saison sèche semblent être le produit d'une migration d'harmattan.

A Musaia, l'absence de données pré-contrôle rend difficile l'interprétation des résultats. Les premières données entomologiques disponibles coïncident avec le début des traitements larvicides (figure 5a). D'une manière générale, les faibles taux de parturité des femelles observés en toutes périodes de l'année, militeraient d'avantage en faveur de populations de simules autochtones capturées à Musaia. Cette situation est probablement liée aux perturbations des traitements larvicides enregistrées en Sierra Leone, pour cause de guerre civile.

La migration de mousson, sud-ouest / nord-est, encore appelée ré-invasion, a été étudiée de manière extensive dans l'aire de l'OCP : (Baldry et al., 1985 ; Baker et al., 1986 ; 1987 ;

1990). La migration d'harmattan, nord-est / sud-ouest, a été surtout décrite dans la partie méridionale de l'Afrique de l'Ouest, notamment au Liberia (Garms, 1987) et en Sierra Leone (Baker, 1998). L'ampleur de ce phénomène est à relativiser par rapport à la précédente, car pour des raisons de géographie, d'hydrologie et de climatologie ouest-africaine, les gîtes les plus productifs sont en zone de basses latitudes. On en déduit que la migration de mousson doit être plus importante que celle d'harmattan. D'une manière générale, ces migrations sont des phénomènes qui peuvent varier en intensité selon les années, en fonction de la pluviométrie (productivité des gîtes sources) et de la durée des avancées des masses atmosphériques.

L'analyse des potentiels mensuels de transmission, ensemble avec les taux mensuels de piqûres, ont montré un net synchronisme de ces deux paramètres, lors des migrations de mousson, aussi bien à Madina Diassa qu'à Morigbédougou : MTP et MBR élevés dans ces deux points avant la mise place des extensions ouest en Guinée et en Sierra Leone. En revanche, la migration d'harmattan n'est pas associée à une transmission significative.

L'étude a montré que la distribution de l'ivermectine à grande échelle a permis une réduction importante du taux d'infectivité des femelles migrantes, phénomène observé à Madina Diassa avec la migration de mousson, montrant ainsi qu'une pression ivermectine ciblant les sources de migration permet une protection effective contre la transmission du parasite dans les zones ré-envahies.

Identité des parasites

D'une manière générale, il se pose dans cette étude, un problème d'effectifs de femelle infectieuse et de l'agent pathogène de l'onchocercose humaine. Pourtant, les données analysées sont des données cumulées sur des périodes assez longues (huit et cinq années pour Morigbédougou et Musaia, respectivement). La faiblesse des effectifs, 14 femelles infectieuses à Morigbédougou et huit à Musaia, est le reflet du faible niveau d'infectivité des populations de vecteurs dans la zone au moment de l'étude. D'autre part, la méthodologie utilisée par l'OCP pour l'identification des parasites prévoyait d'identifier un maximum de deux larves infestantes par simule, même chez celles qui en portaient plus. Ce choix procède de l'hypothèse selon laquelle tous les parasites présents chez une même simule appartiendraient à la même espèce ou à la même souche. Enfin, il est aussi important de souligner que dans cette étude, les analyses comparatives concernant l'identification des parasites ont été faites sur la base du nombre de

femelles infectieuses et non du nombre de larves infestantes trouvées chez ces femelles. Nous n'avons pas observé de différence significative avec l'une ou l'autre série de données utilisées pour comparer les proportions relatives des espèces et souches parasites. Le risque de se trouver en présence d'infection mixte (par des espèces distinctes) chez la même simule doit être rarissime. En effet, nous n'avons observé un tel cas qu'à une seule reprise, chez une simule forestière, et ce sur des milliers de simules analysées (Toé, Adjami et al. 1998).

L'identification d'*O. volvulus* chez les femelles infectieuses permet de corriger les indices de transmission de l'onchocercose humaine. Cette correction permet d'apprécier la chute du risque de transmission. En effet, l'étude montre que *O. volvulus* ne représente que 16 % des L3 céphaliques identifiées (Tableau 1). La proportion des femelles parasitées par les filaires d'origine animale est plus importante à Madina Diassa, où seulement 10 % des femelles étaient parasitées par *O. volvulus*, que sur les deux autres points, où cette espèce représente moins du 1/3 des parasites identifiés. Cette situation peut être liée à la présence de bétail (hôtes de certaines espèces d'onchocerques), plus importante dans cette zone que dans les autres zones d'étude. L'identité spécifique des filaires autres que *O. volvulus* et *O. ochengi* n'a pu être établie dans l'étude. Compte tenu de la sensibilité et de la spécificité des outils d'identification utilisés, avoisinant 100% (Meredith et al., 1991 ; Zimmerman et al., 1992, 1993), nous avons considéré ces filaires comme étant d'autres espèces du genre *Onchocerca* sp. Cette hypothèse est confortée par le fait que *S. damnosum* s.l. peut également héberger diverses espèces d'onchocerques d'origine animale et qu'en Afrique, en plus d'*O. ochengi*, au moins trois autres espèces d'onchocerques parasitent les bovidés : *O. armillata*, *O. raillieti*, *O. denkei* ; (Crosskey, 1990 ; Omar & Garms, 1981). En tout état de cause, des investigations supplémentaires visant à identifier ces espèces d'onchocerques dans la zone d'étude sont indispensables.

L'identification des parasites collectés chez le vecteur permet d'apprécier le risque épidémiologique lié aux mouvements migratoires des simules. En effet, à Madina Diassa, la migration de mousson était principalement associée à la transmission d'*O. volvulus*. Une surveillance particulière de cette migration est nécessaire dans la période post-OCP. En effet, à Madina Diassa, bien que la transmission concerne principalement les autres espèces d'onchocerques, l'étude montre que le nombre de femelles parasitées par *O. volvulus* pendant le mois de juin est significativement plus élevé que les autres mois. Toutefois, pendant la période d'étude considérée, 1992-2001 (études de post-traitement : 1995-2001), la chute des indices de transmission d'*O. volvulus* était déjà décelable.

La possibilité de différencier avec fiabilité, parmi les larves parasitant *S. damnosum s.l.*, *O. volvulus* des onchocerques animales, permet d'avoir une idée des préférences trophiques du vecteur. Avec plus de 73% de femelles infectieuses parasitées par des onchocerques d'origine animale, *S. sirbanum* apparaît surtout comme une espèce zoophile dans cette zone d'étude. Cependant, cette appréciation est délicate du fait du mode de capture (sur appât humain). De plus, les faibles charges parasitaires existant chez l'homme dans l'aire initiale peuvent influencer sur les taux d'infection des femelles. Dans ce cas, les simules peuvent en effet piquer l'homme et ne pas s'infecter. Toutefois, l'importance numérique des femelles parasitées par des onchocerques d'origine animale, nous interpelle sur l'effet d'un tel parasitisme sur la population humaine. Au plan épidémiologique, les larves d'onchocerques animales inoculées à l'homme ne peuvent s'y développer ou connaissent un cul de sac évolutif. Récemment, des travaux ont montré que l'inoculation répétée des larves d'origine animale à la population humaine pourrait constituer un stimulus immunologique chez l'homme et ainsi contribuer à prévenir l'infection par *O. volvulus* (Wahl et al., 1998).

5. CONCLUSION

L'analyse des taux mensuels de piqûres, en relation avec les indicateurs d'âge physiologique, les infections par *O. volvulus* et les périodes de traitements larvicides, suggère l'existence de mouvements simuliens le long de l'axe Mali - Guinée - Sierra Leone. On peut distinguer deux mouvements saisonniers : de mai à septembre, un mouvement sud-ouest / nord-est à la faveur de la mousson ; et de janvier à mars, un mouvement nord-est / sud-ouest dans l'orientation de l'harmattan.

L'analyse des potentiels mensuels de transmission indique que les extensions de la lutte antivectorielle en Guinée et en Sierra Leone, de même que la distribution de l'ivermectine dans ces territoires, ont entraîné une chute de la transmission d'*O. volvulus*. D'autre part, l'arrêt définitif des traitements larvicides en Sierra Leone ne semble pas avoir eu d'impact en Guinée et au Mali, pendant la période de l'étude.

Il apparaît, le long de l'axe de migration Mali - Guinée - Sierra Leone, comme dans nombre d'autres foyers de savane ouest-africaine, que les femelles de *S. damnosum s.l.* et principalement de *S. sirbanum*, sont aussi parasitées par diverses espèces d'onchocerques

animales. L'emploi de la PCR, couplée aux sondes d'ADN spécifiques, a permis de distinguer *O. volvulus* de ces onchocerques animales, confirmant ainsi l'utilité de ces outils moléculaires dans l'estimation du risque épidémiologique, dans le contexte de la surveillance de l'onchocercose. Par ailleurs, la proportion des onchocerques d'origine animale n'étant pas négligeable, une étude visant à une meilleure connaissance de ce groupe de parasite et des conséquences de leur inoculation répétée à l'homme pourrait s'avérer utile.

Remerciements

Les auteurs remercient les Drs B. Philippon et M. Boussinesq qui ont bien voulu commenter et corriger les premières versions de ce manuscrit. Les remerciements s'adressent également aux équipes nationales entomologiques de Guinée et de Sierra Leone et à l'équipe nationale du Mali.

BIBLIOGRAPHIE

Baker RH, Baldry, D.A.T., Boakye, D. and Wilson MD. 1987. Measures aimed at controlling the invasion of *Simulium damnosum* Theobald s.l. (Diptera: Simuliidae) into the onchocerciasis control programme area. III. Searches in the Upper Niger basin of Guinea for additional sources of flies invading south-eastern Mali. *Trop. Pest. Manag.*, 33 (4), 336-346.

Baker RH, Baldry, D.A.T., Zerbo, D.G., Pleszack, F.C., Boakye, D. and Wilson MD. 1986. Measures aimed at controlling the invasion of *Simulium damnosum* Theobald s.l. (Diptera: Simuliidae) into the onchocerciasis control programme area. II- Experimental aerial larviciding in the Sankarani and Fie basins of Eastern Guinea in 1984 and 1985. *Trop. Pest. Manag.*, 32 (2), 1-14.

Baker, R.H., Guillet, P., Seketeli, A., Poudiougou, P., Boakye, D., Wilson, M.D. and Bissan, Y. 1990. Progress in controlling the reinvasion of windborne vectors into the western area of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 328(1251):731-47, discussion 747-50.

Baldry, D.A.T., Zerbo, D.G., Baker R.H., Walsh, J.F. and Pleszack, F.C. 1985. Measures aimed at controlling the invasion of *Simulium damnosum* s.l. Theobald (Diptera: Simuliidae) into the onchocerciasis control programme area. I- Experimental aerial larviciding in the Upper Sassandra basin of south-eastern Guinea in 1985. *Trop. Pest. Manag.*, 31 (4), 255-263.

Boatin, B., Molyneux, D.H., Hougard, J.M., Christensen, O.W., Alley, E.S., Yameogo, L., Seketeli, A. and Dadzie, K.Y. 1997. Patterns of epidemiology and control of onchocerciasis in West Africa. *Journal of Helminthology*. 71, 91-101

Crosskey R.W. 1990. The natural history of blackflies. *John Wiley & Sons Ed., Chichester, England*. 711pp.

Dadzie K.Y., De Sole G., Remme J., 1992. Ocular onchocerciasis and the intensity of infection in the community.IV. The degraded forest of Sierra Leone. *Trop. Med. Parasitol.* 43 : 75-79.

Erttman K.D., Meredith S.E.O., Greene B.M., Unnasch T.R., 1990. Isolation and characterisation of form specific DNA sequences of *O. volvulus*. *Acta Leiden* 59 :253-260.

Erttman K.D., Unnasch T.R. Greene B. M., Albiez E.J., Boateng J., Denke A.M., Ferraroni J.J., Karam M., Schulz-Key H., Williams P.N., 1987. A DNA sequence specific for forest form *Onchocerca volvulus*. *Nature* 327 : 415-417.

Garms R, Walsh JF, Davies JB.1979. Studies on the reinvasion of the Onchocerciasis Control Programme in the Volta River Basin by *Simulium damnosum s.l.* with emphasis on the south-western areas. *Tropenmed Parasitol.* 30(3):345-62.

Garms R. & Wash J. F. 1987. The migration and dispersal of black flies : *Simulium damnosum* S. L., the man vector of human onchocerciasis. In black flies : ecology, population management and annotated world list (ed. K. C. Kim & R. W. Merritt), pp. 201-214. University park and London : Pennsylvania State University.

Katholi CR, Toe L, Merriweather A, Unnasch TR. Related. 1995. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by polymerase chain reaction screening of pools of black flies. *J Infect Dis.* 172(5):1414-7.

Le Berre R. 1966. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, 17, 204 p.

- Le Berre R., Walsh J.F., Philippon B., Poudiougou P., Henderickx J.E.E., Guillet P., Sékétéli A., Quillévéré D., Grunewald J. and Cheke R.A. 1990. The WHO Onchocerciasis Control Programme : retrospect and prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 328, 721-729
- Lewis D. J. et Marr J. D. M., 1963 A nematode from the malpighian tubes of *Simulium damnosum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 57, 238 p.
- Meredith, S.E.O., Lando, G., Gbakima, A.A. Zimmerman, P.A. et Unnasch, T.R. 1991. *Onchocerca volvulus* : application of polymerase chain reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp. Parasitol.*, 73, 335-344.
- Omar MS, Garms R, 1981. Histochemical differentiation of filarial larvae found in *Simulium damnosum* s.l. in west Africa. *Trop. Med. Parasitol.* 32 : 259-264.
- Philippon B. 1977. Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. *Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M.* 63 , 308p
- Philippon B., Sékétéli A. 1998. Genèse de l'OCP et situation de l'onchocercose en Afrique occidentale avant les mesures de contrôle. *Cahiers santé*; 8: 27-31
- Renz A. & Wenk P., 1987. Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North-Cameroon. II. Seasonal and diurnal changes in the biting densities and in the age-composition of the vector population. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*. 81 (3) 229-237.
- Toé L., C. Back, Adjami A.G., Tang J.M., & Unnasch T.R. 1997. *Onchocerca volvulus*: Comparison of field collection methods for the preservation of parasite and vector samples for PCR analysis. *Bulletin of the World Health Organization*. 75 (5): 443-447.
- Walsh G., Enyong P., Ngosso A., Schibel J.M., Moyou R., Tubbesing H., Ekale D., Renz A. 1998. *Onchocerca ochengi* : epidemiological evidence of cross-protection against *Onchocerca volvulus* in man. *Parasitology* 116 (4) : 349-362.

Walsh J.F., Davies J.B., Le Berre R. & Garms R .1978. Standardisation of criteria for assessing the effect *Simulium* control in onchocerciasis control programmes. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72, 675-676.

Zimmerman P. A., Dadzie K. Y., De Sole G., Remme J., Soumbey A. E., Unnasch T. R., 1992. *Onchocerca volvulus* DNA probe classification correlates with epidemiological patterns of blidness. *J. Infect. Dis* 165 : 964-968.

Zimmerman P.A. Toe, L., Unnasch, T.R., 1993. Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 58 : 259-268.

Zimmerman P.A. Toe, L., Unnasch, T.R., 1993. Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 58 : 259-268.

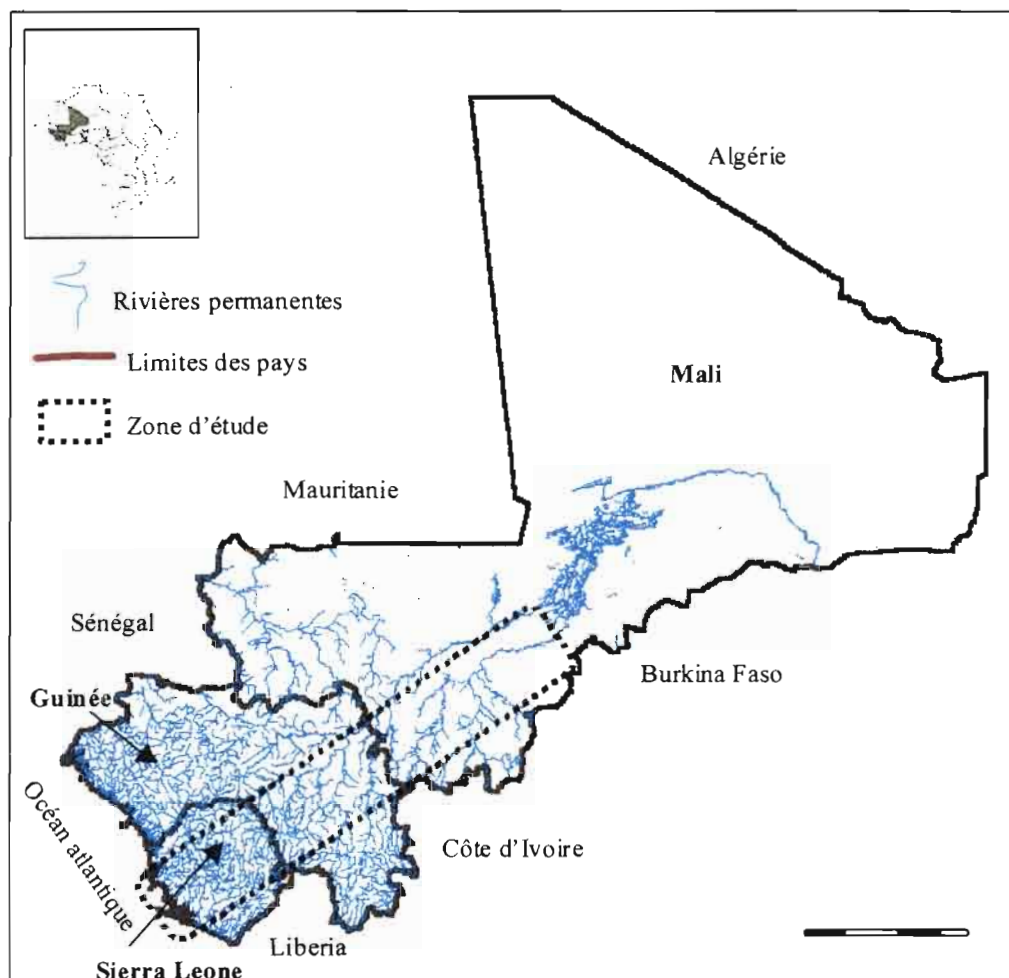
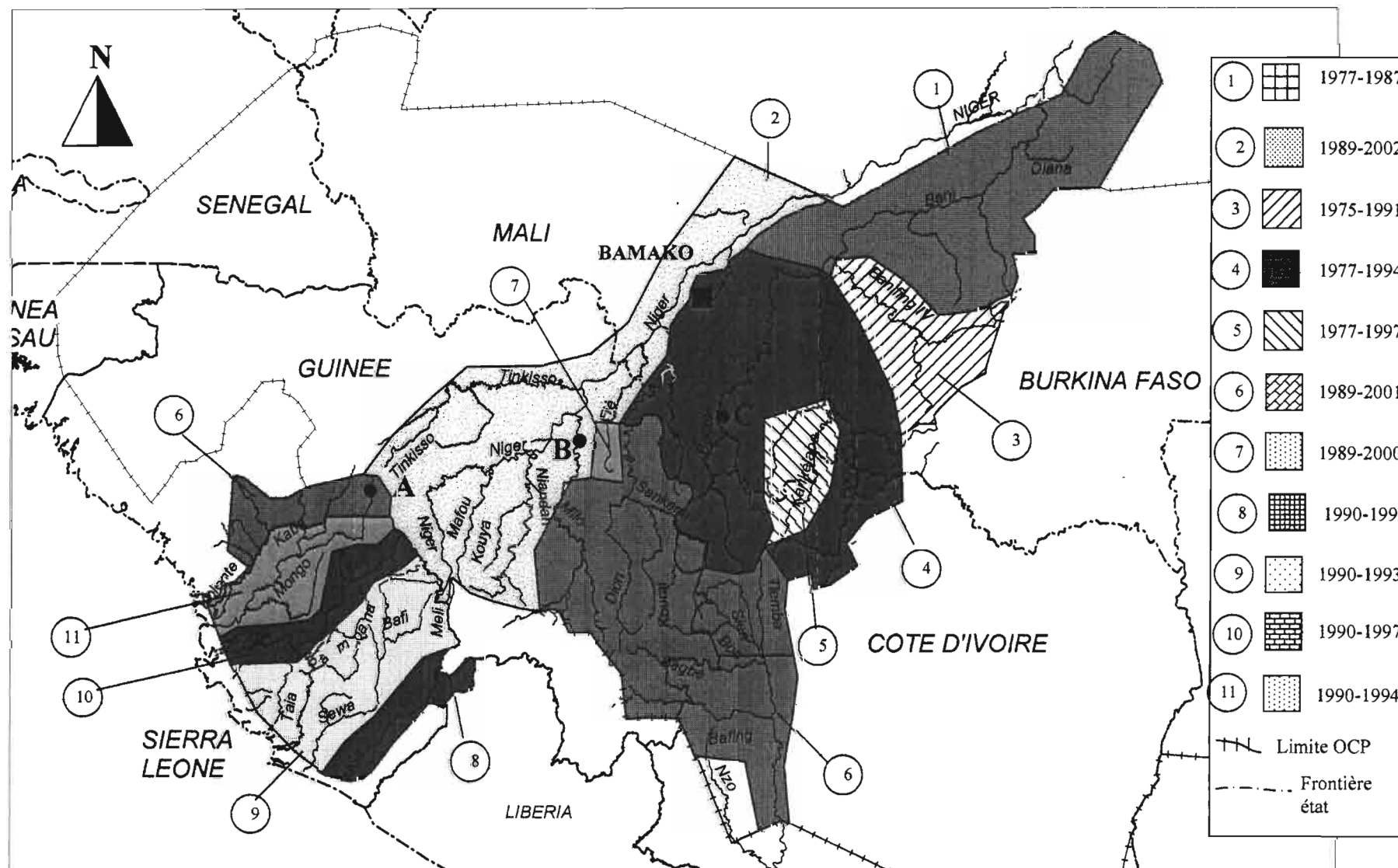


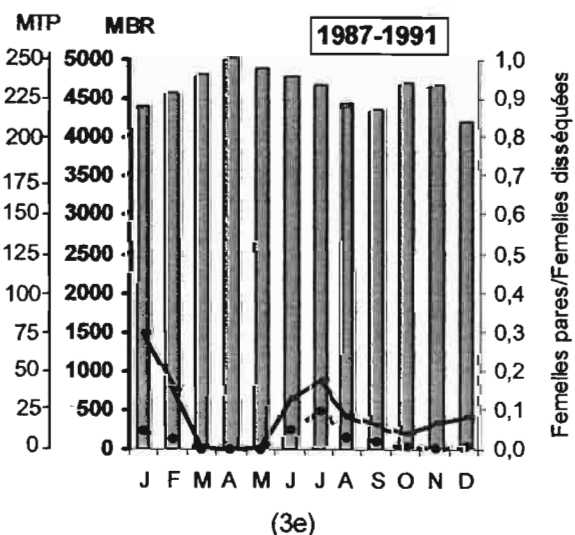
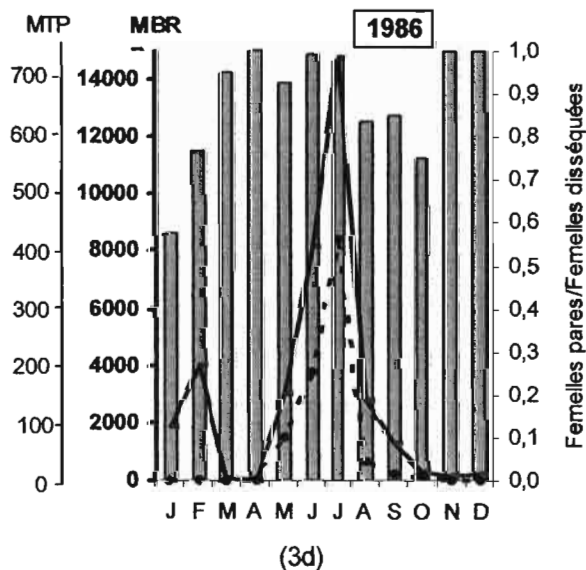
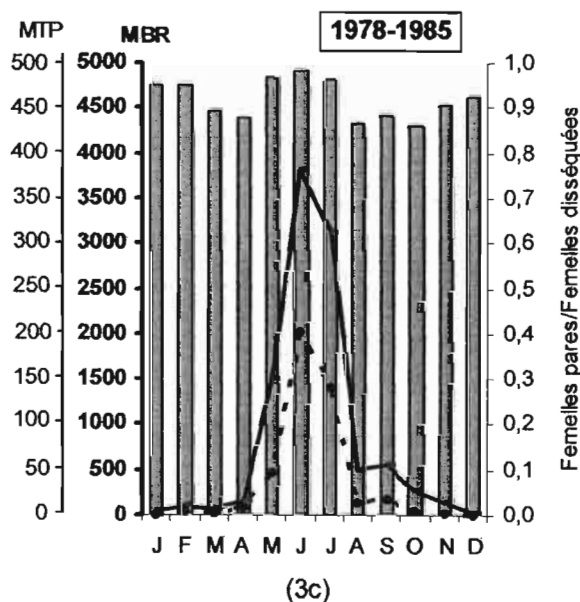
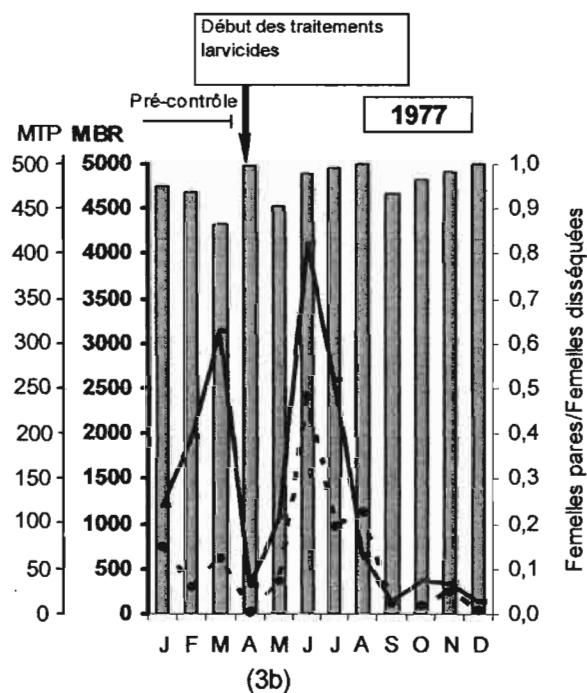
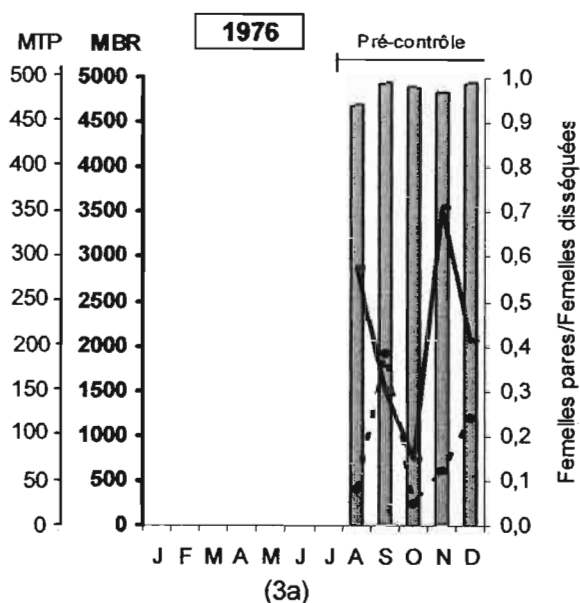
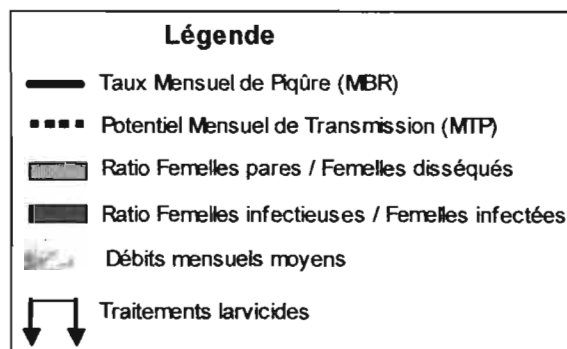
Figure 1: Zone d'étude



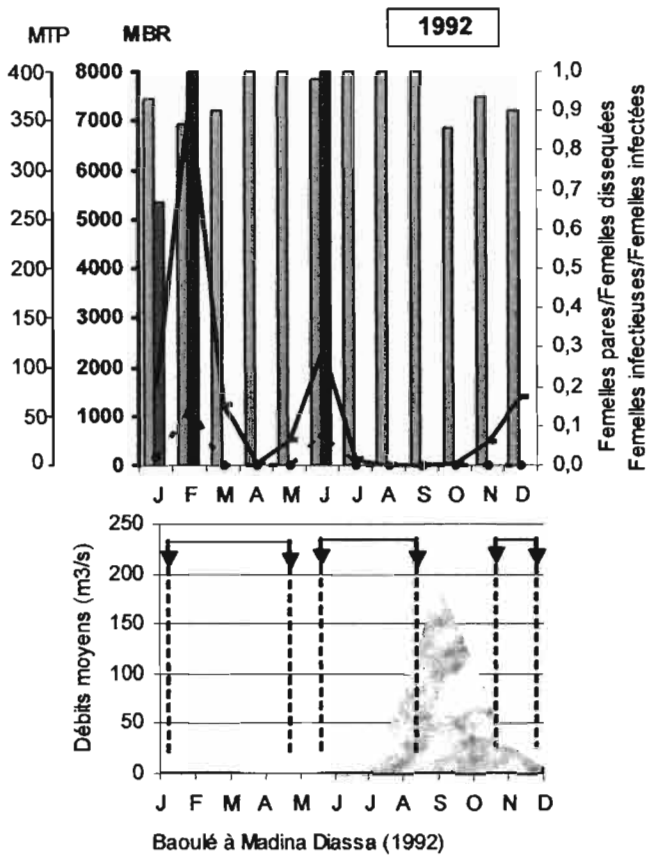
A = Musaia ; B = Morigbédougou ; C = Madina Diassa

Figure 2 : Chronologie des traitements larvicides dans la zone d'étude

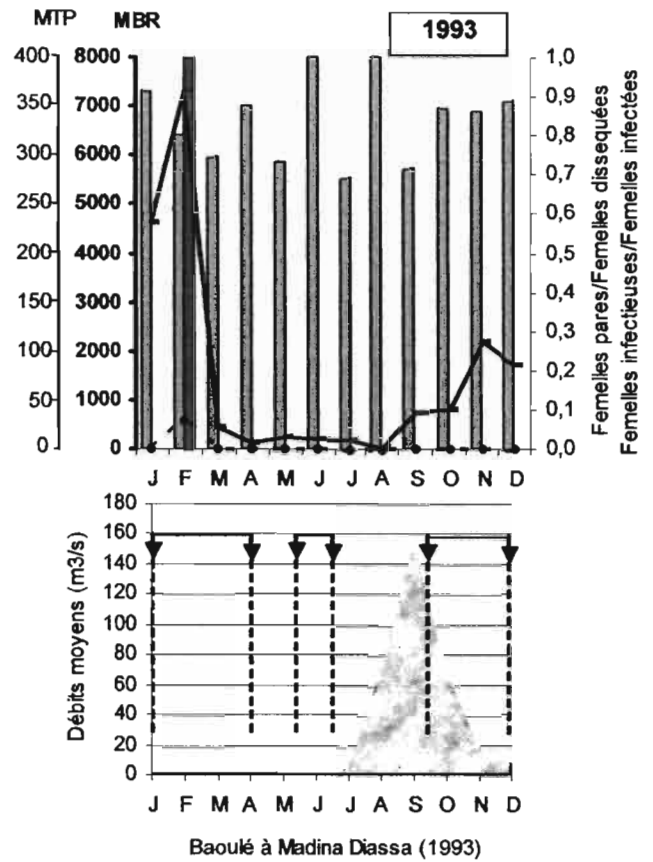
Figures 3 (3a –3e) : Variations des MBR et des MTP à Madina Diassa



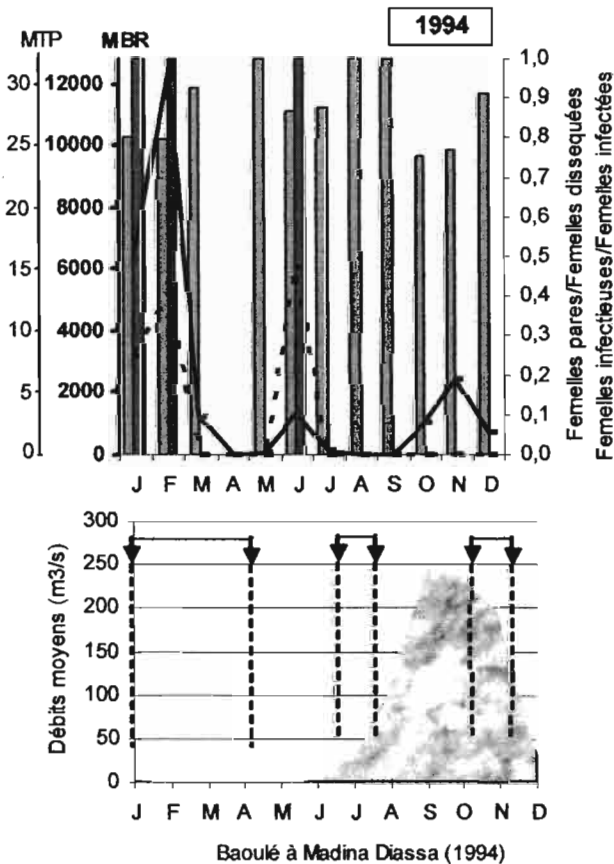
Figures 3 (suite 3f-3h) : Variations des MBR et des MTP à Madina Diassa



(3f)

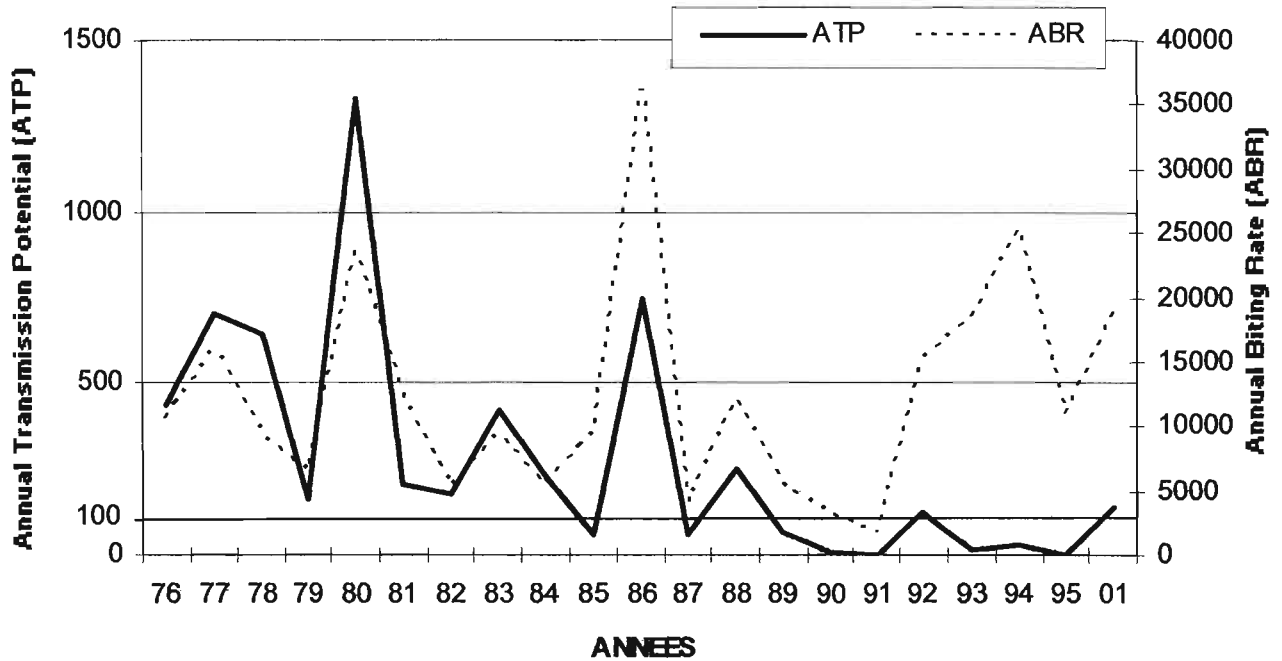


(3g)

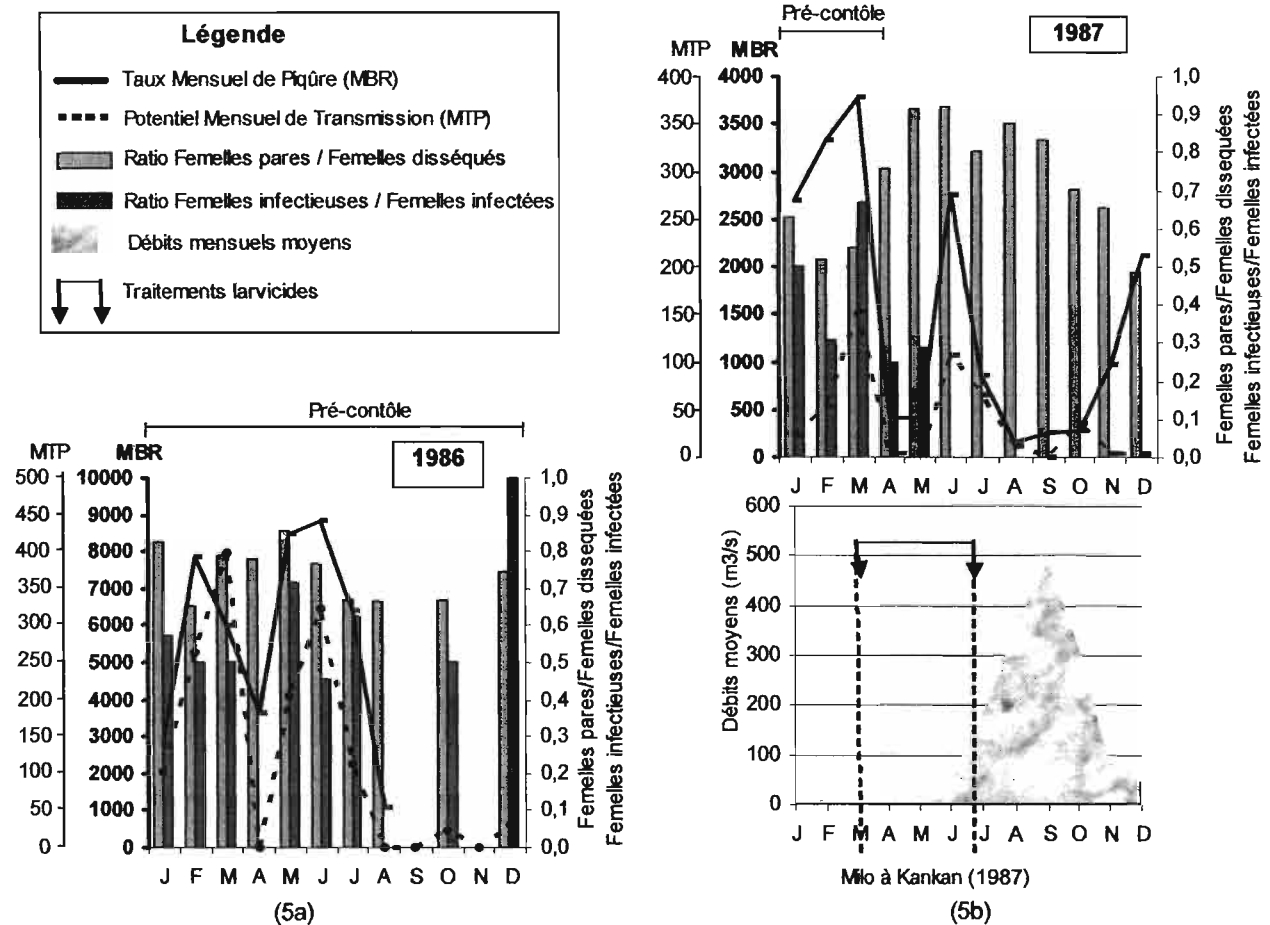


(3h)

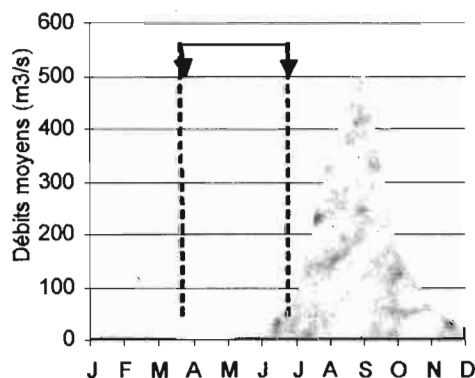
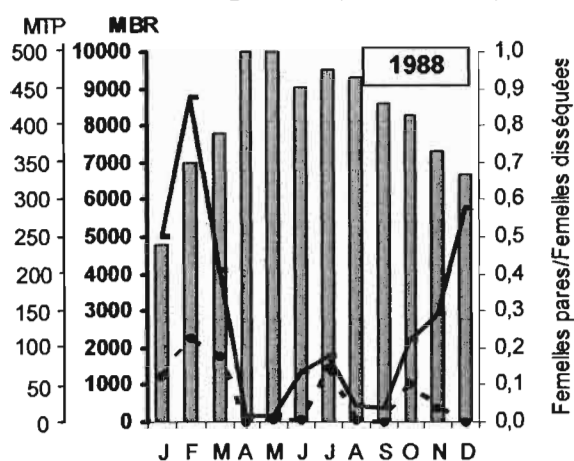
Figure 4 : Evolution des ATP et des ABR à Madina Diassa



Figures 5 (5a & 5b) : Variations des MBR et des MTP à Moribgédougou

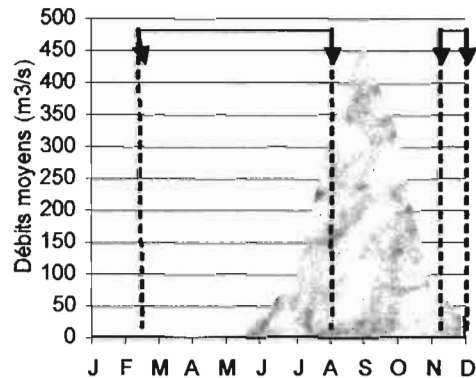
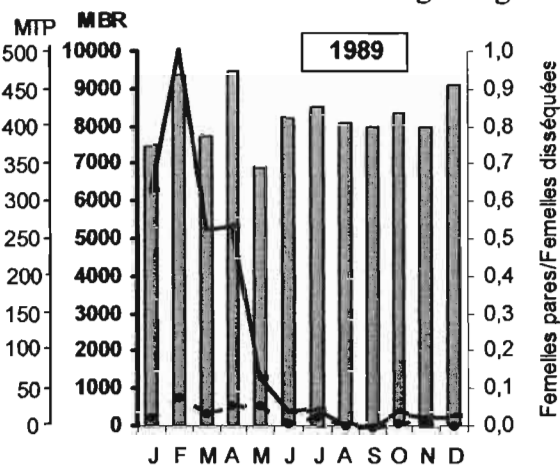


Figures 5 (suite 5c –5f) : Variations des MBR et des MTP à Moribgédougou



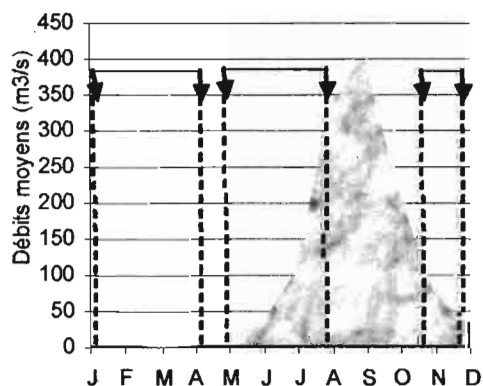
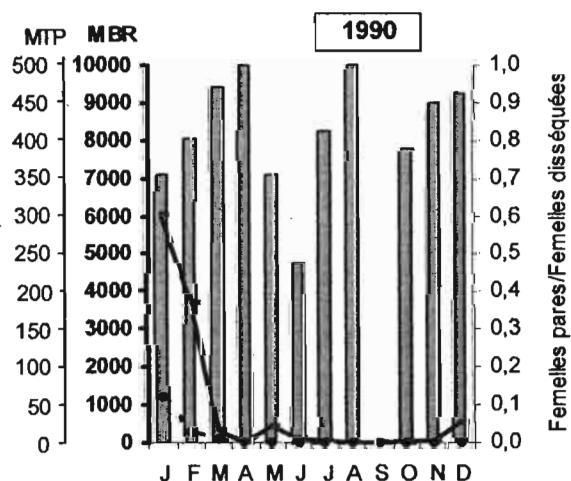
Milo à Kankan (1988)

(5c)



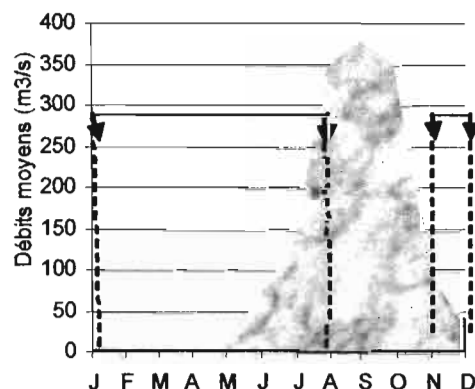
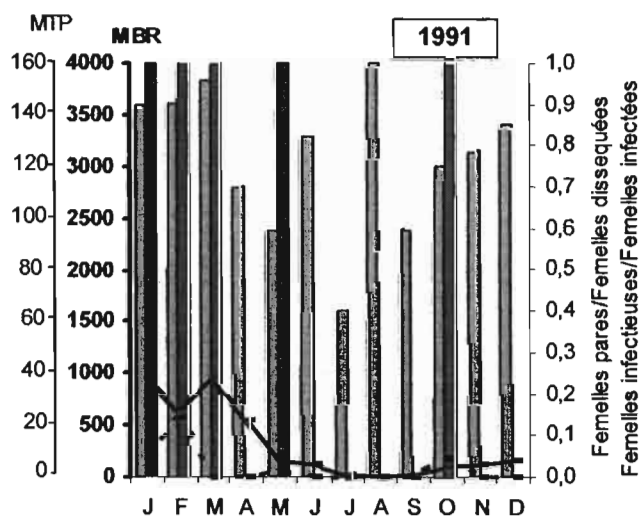
Milo à Kankan (1989)

(5d)



Milo à Kankan (1990)

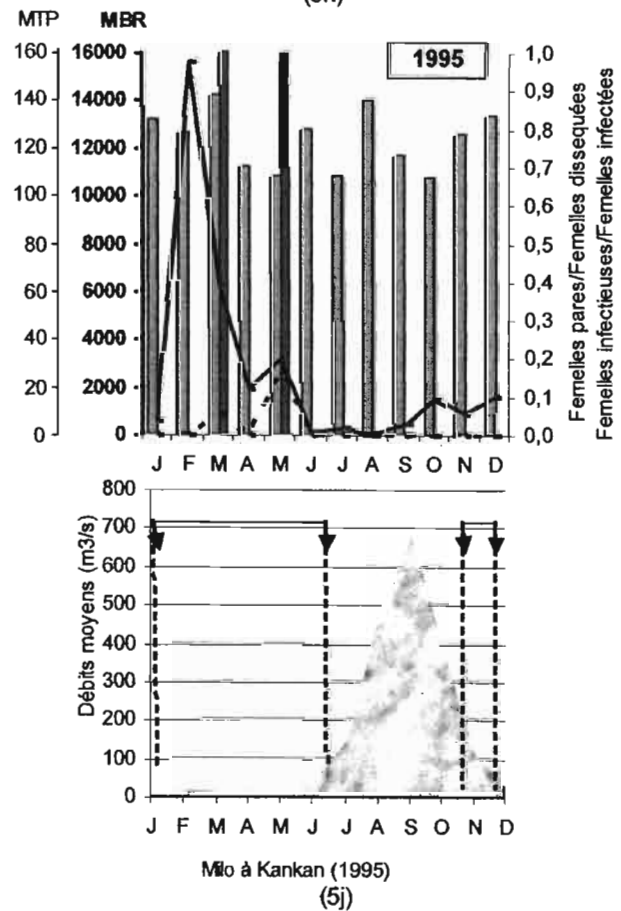
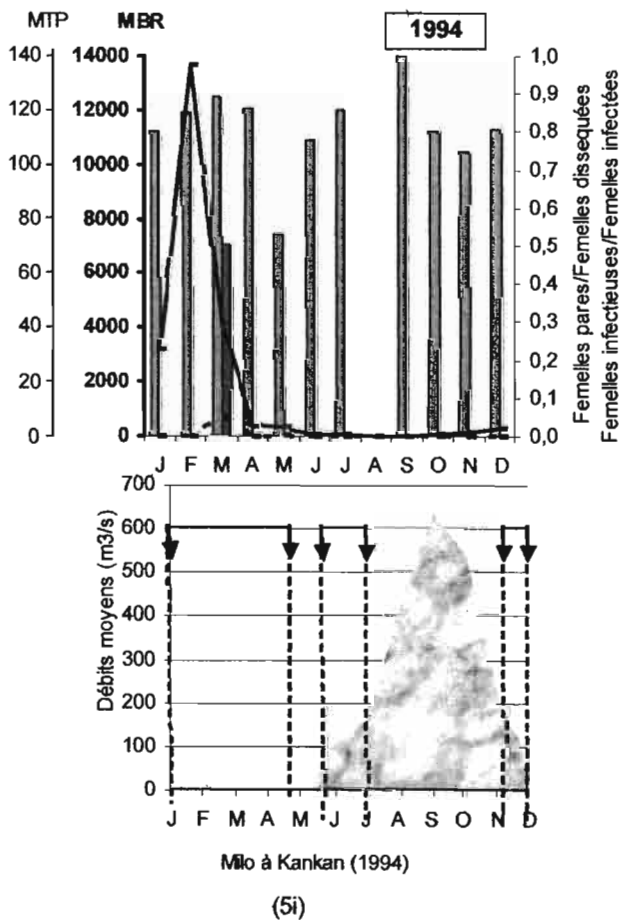
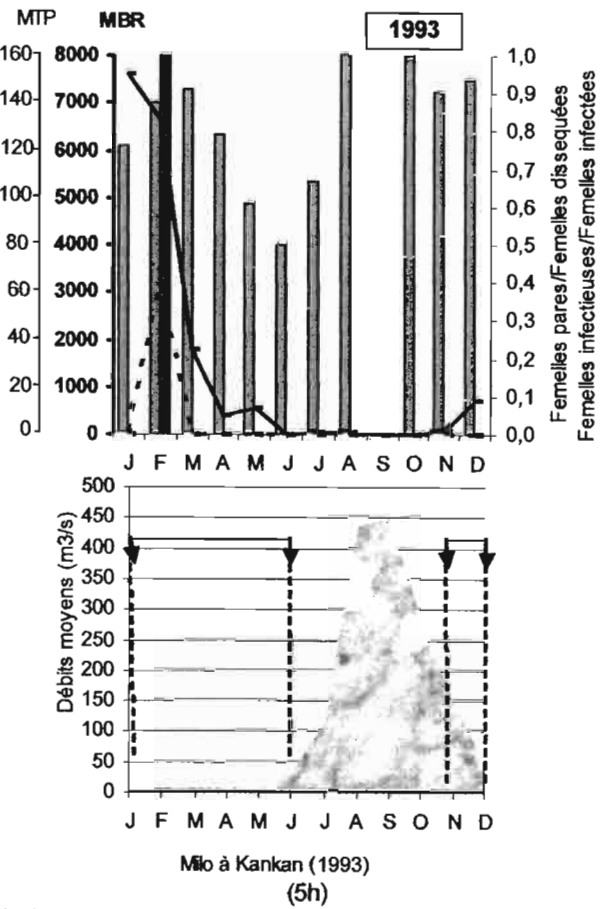
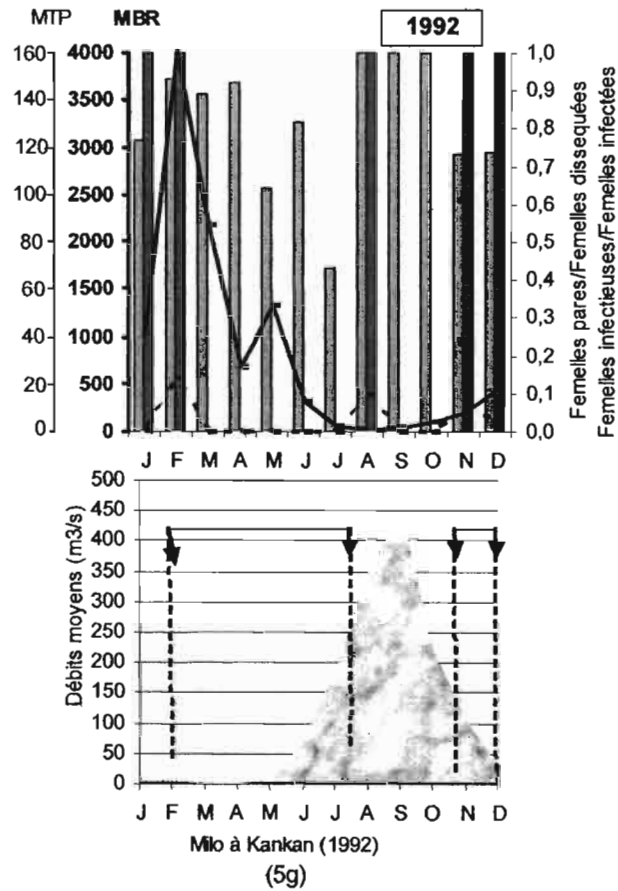
(5e)



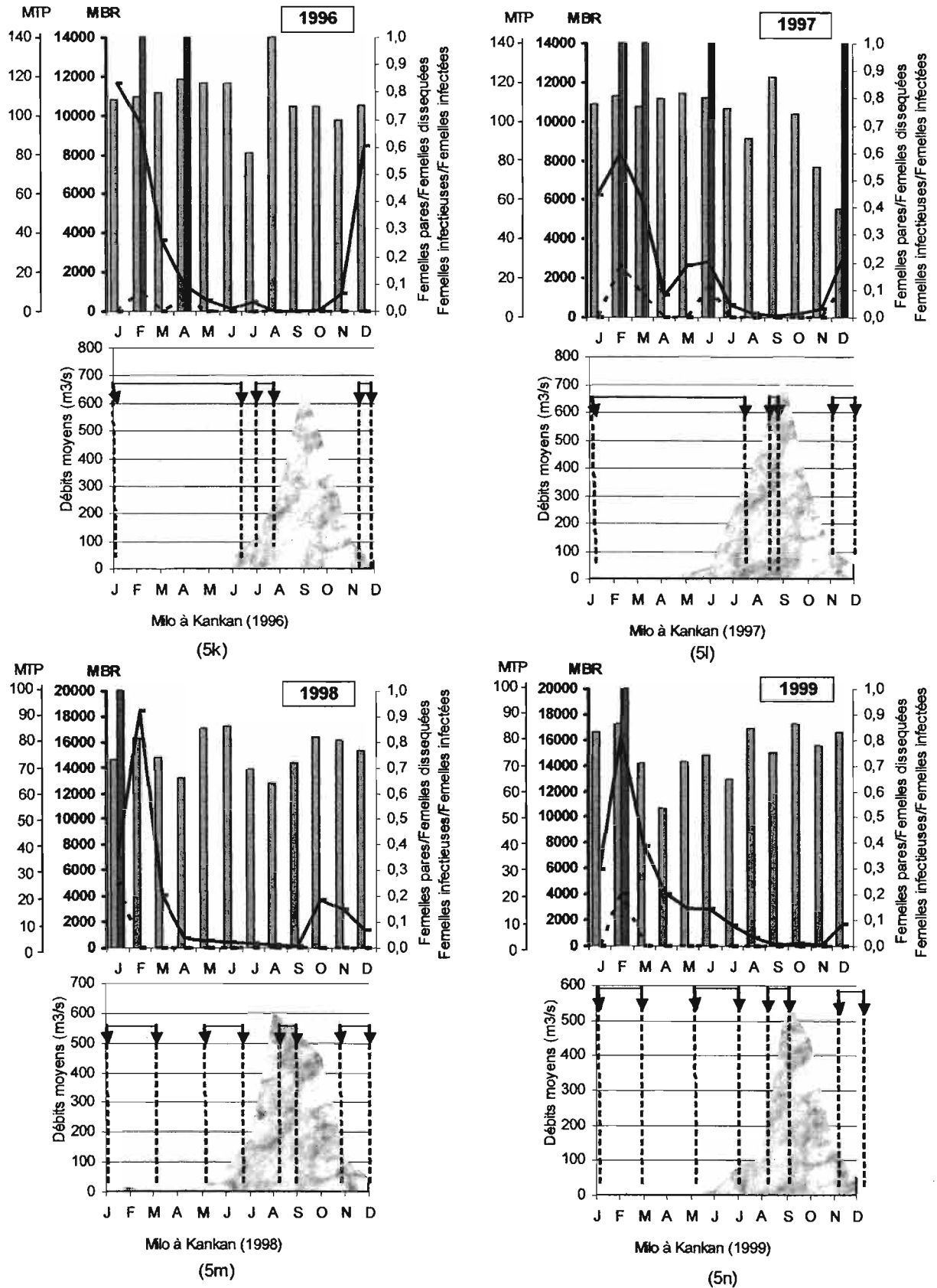
Milo à Kankan (1991)

(5f)

Figures 5 (suite 5g –5j) : Variations des MBR et des MTP à Moribgédougou



Figures 5 (suite 5k – 5n) : Variations des MBR et des MTP à Moribgédougou



Figures 5 (suite 5o – 5p) : Variations des MBR et des MTP à Moribédougou

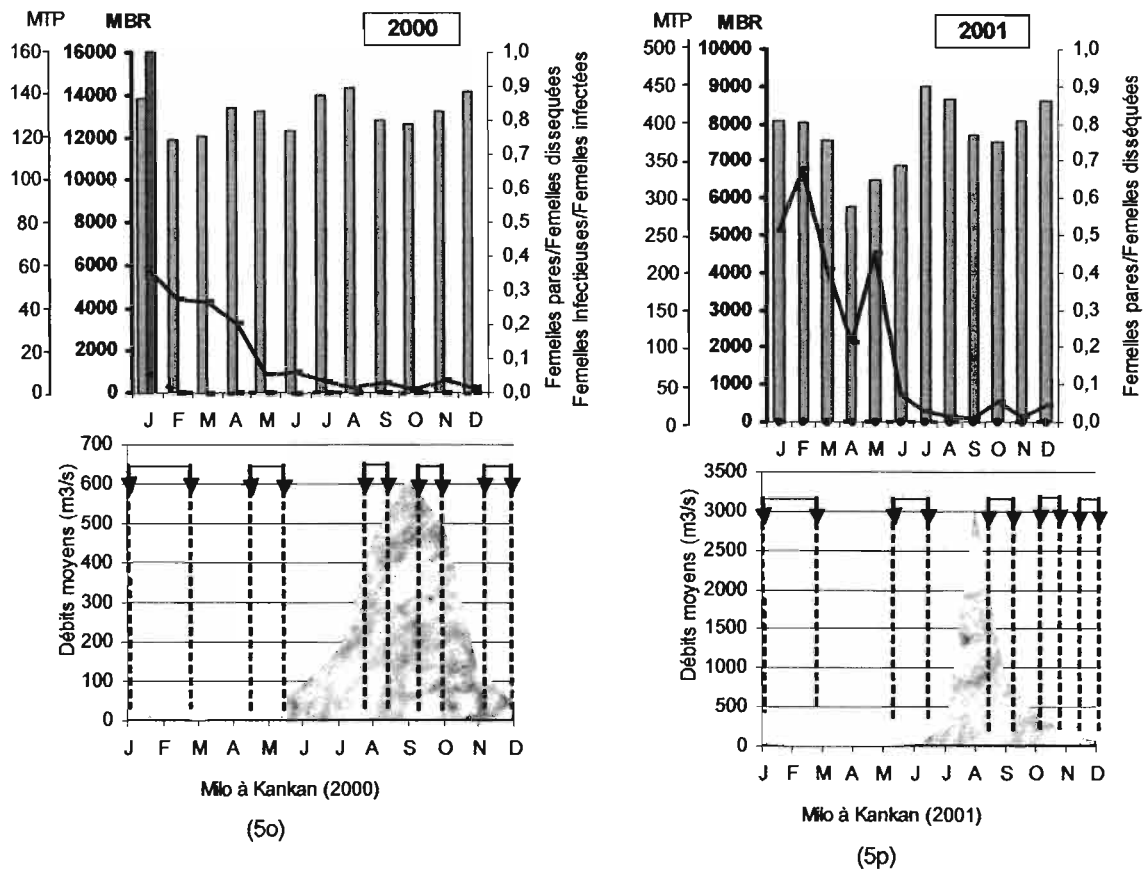
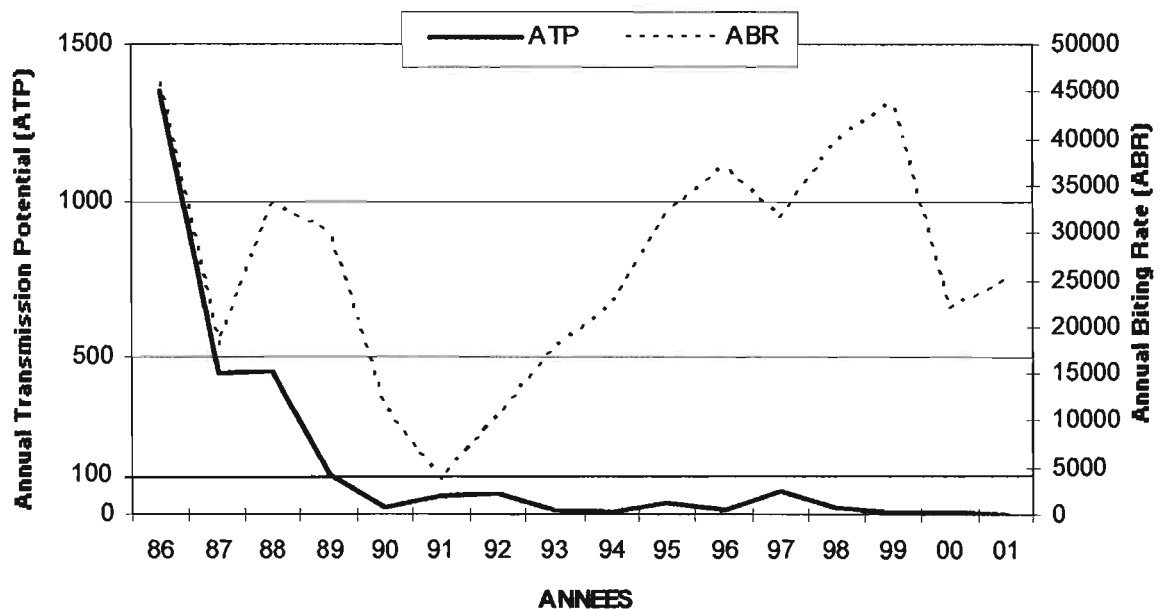
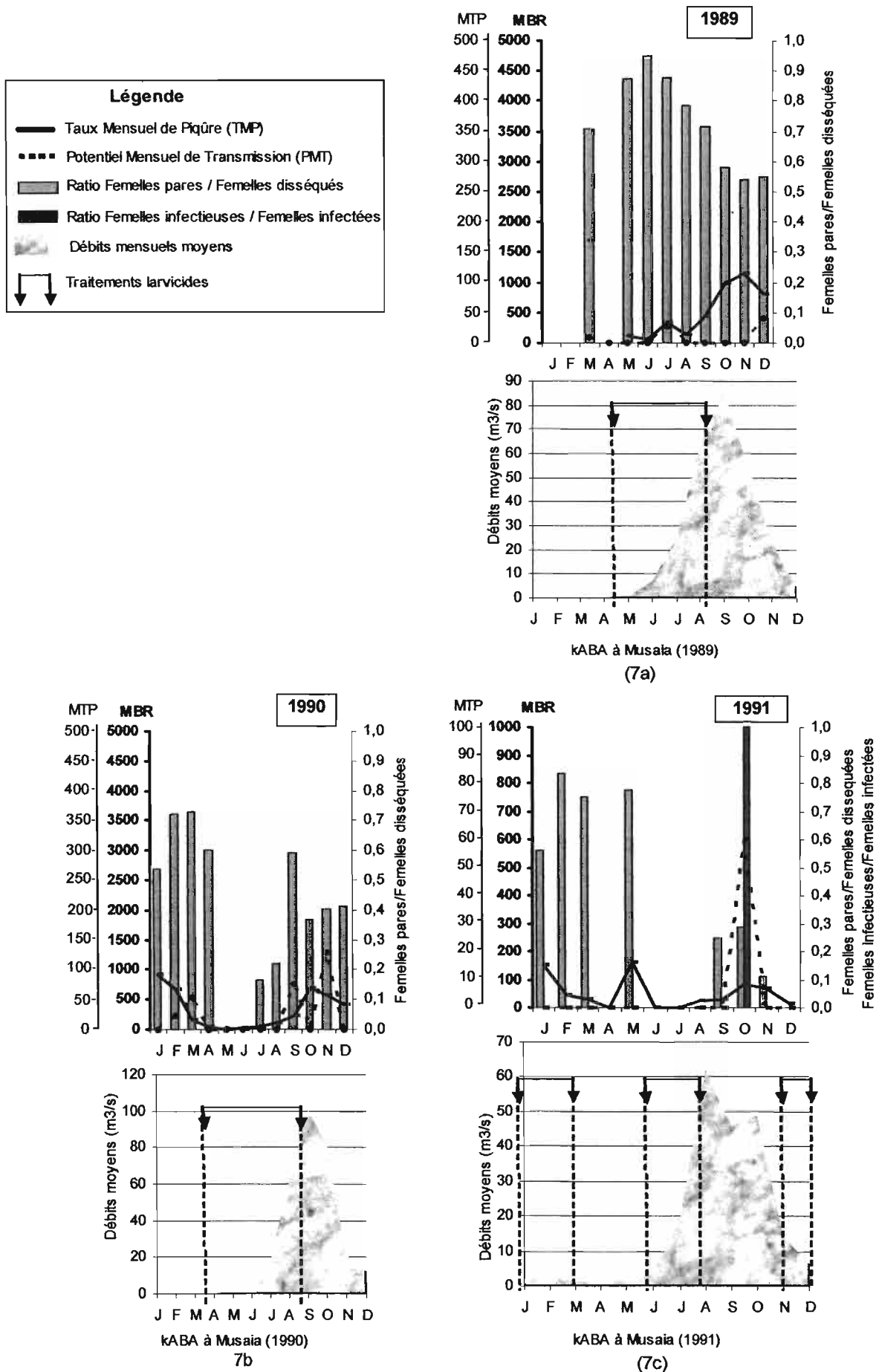


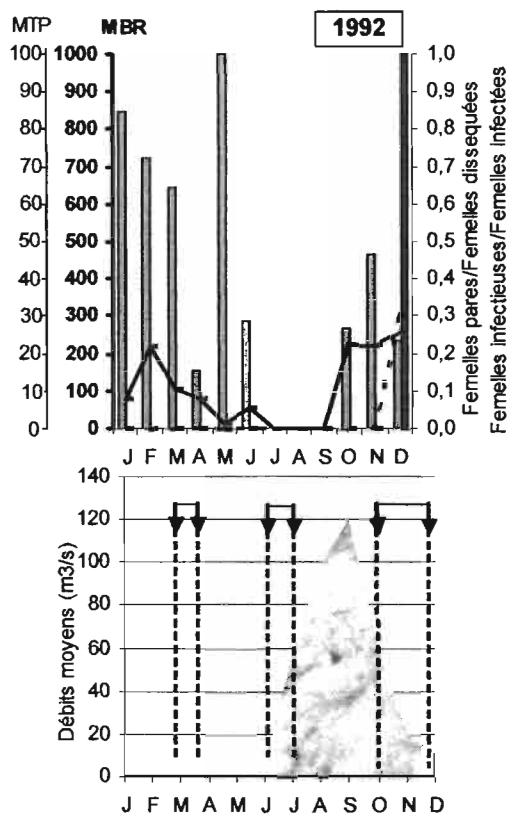
Figure 6 : Evolution du potentiel annuel de transmission (ATP) et du taux annuel de piqure (ABR) à Moribédougou



Figures 7 (7a –7c) : Variations des MTP et des MBR à Musaia

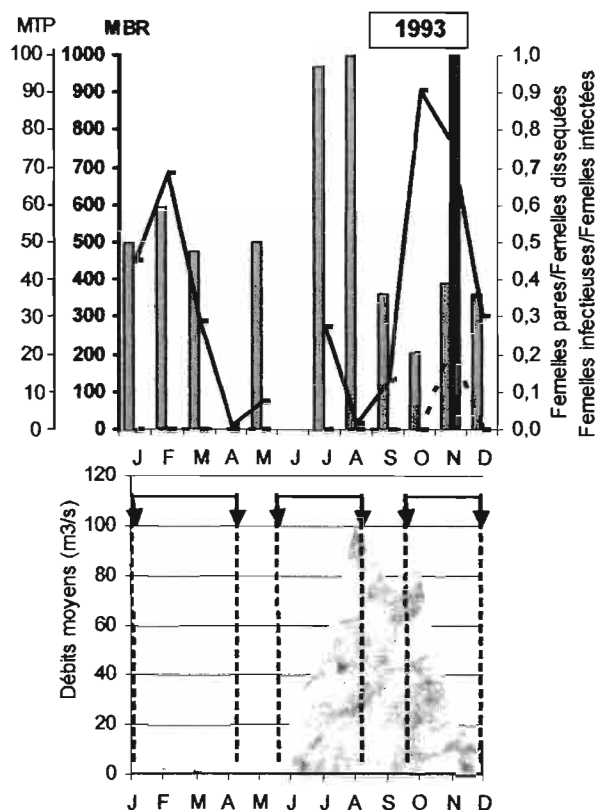


Figures 7 (suite 7d –7g) : Variations des MTP et des MBR à Musaia



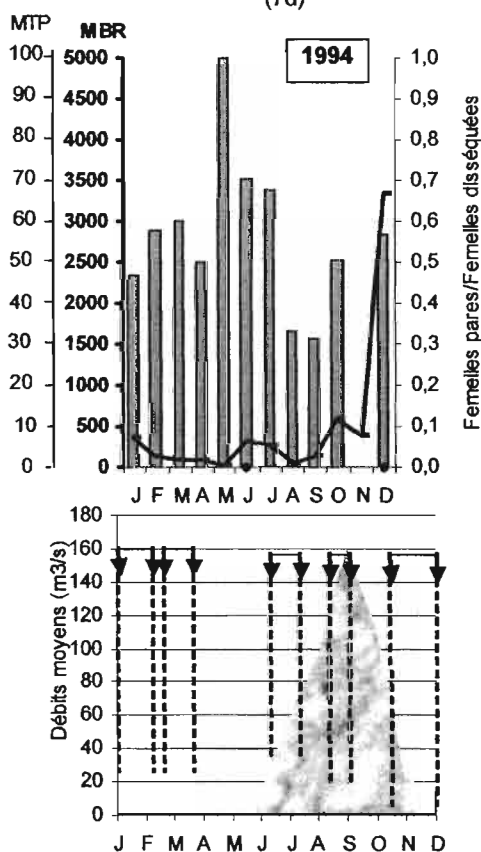
kABA à Musaia (1992)

(7d)



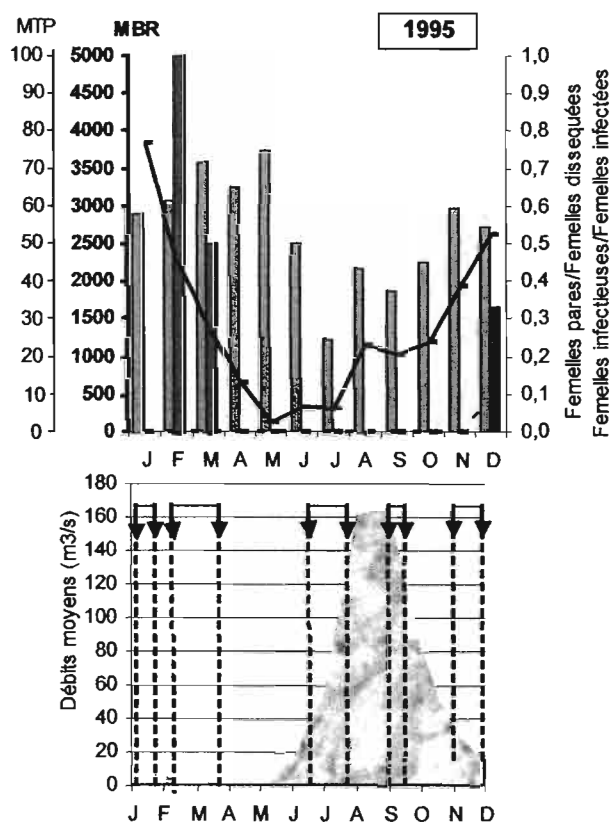
kABA à Musaia (1993)

(7e)



kABA à Musaia (1994)

(7f)



kABA à Musaia (1995)

(7g)

Figures 7 (suite 7h –7i) : Variations des MTP et des ABR à Musaia

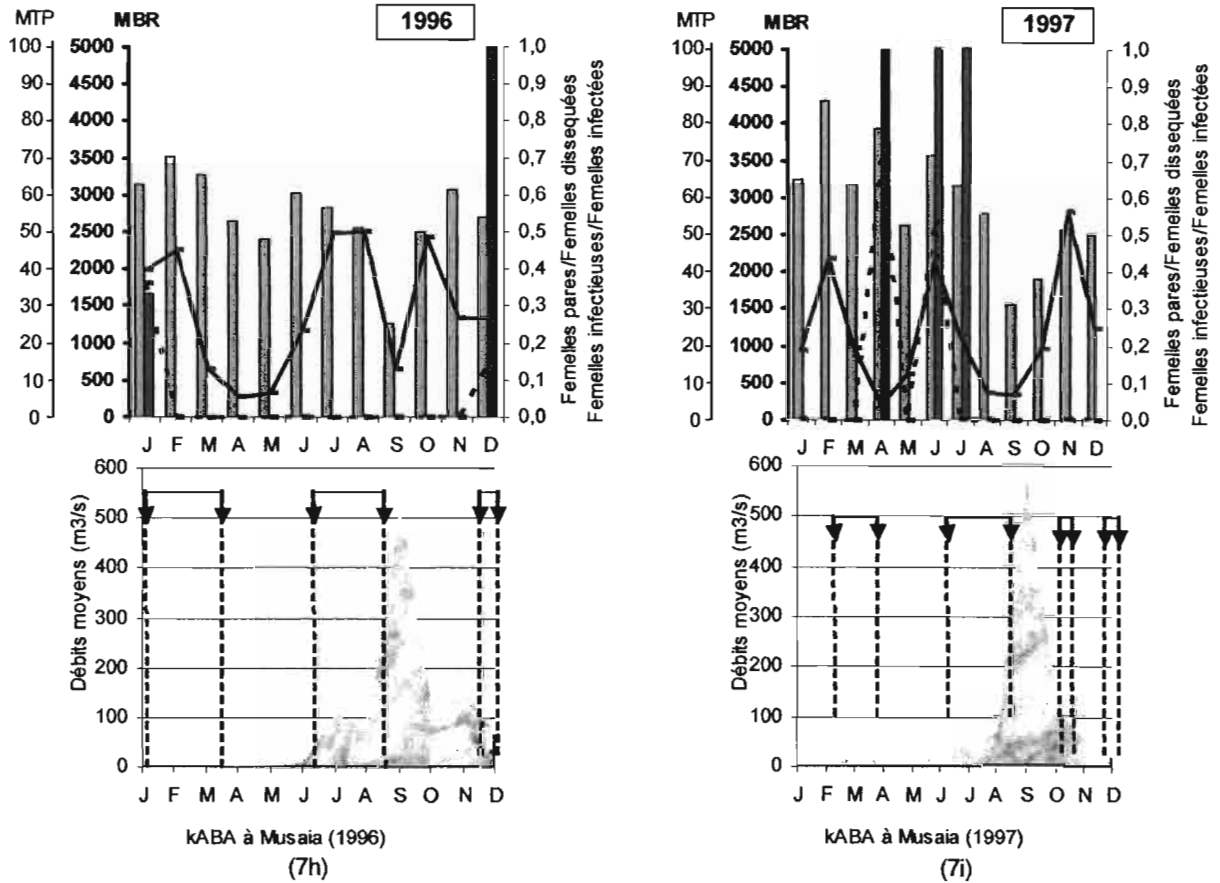
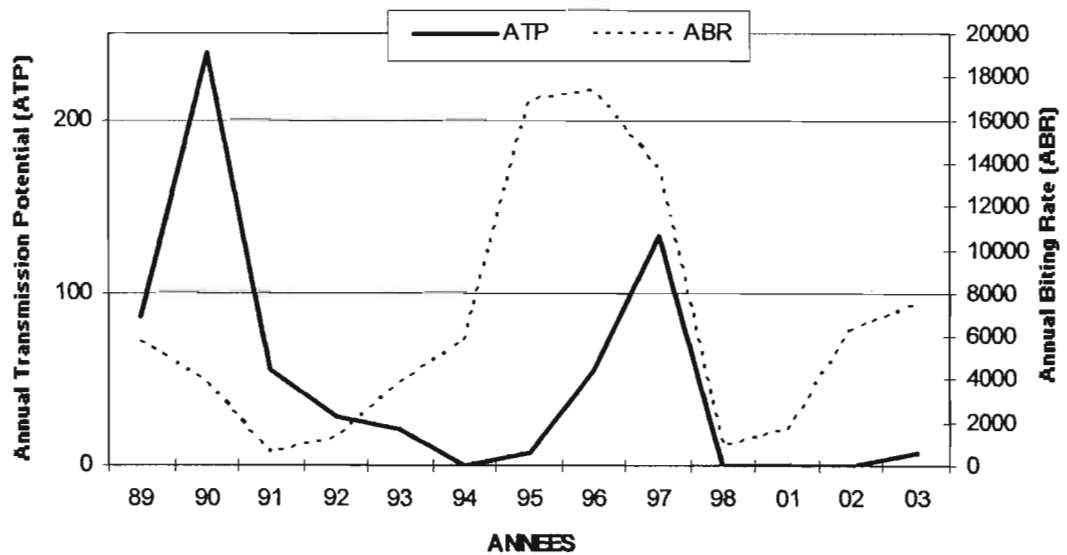


Figure 8 : Evolution du potentiel annuel de transmission (ATP) et du taux annuel de piqûre (ABR) à Musaia



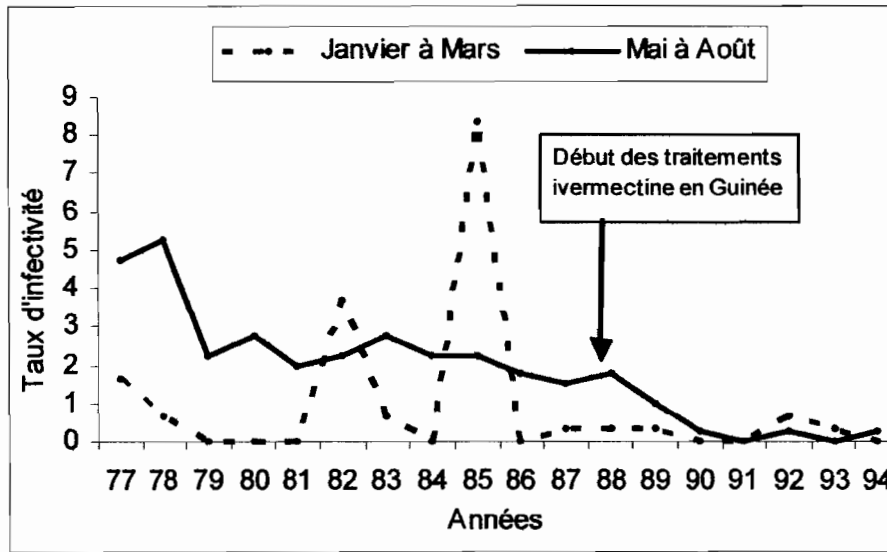
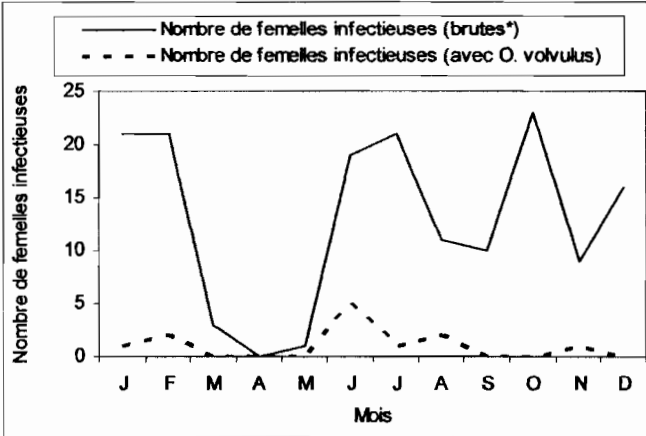


Figure 9 : Evolution du taux d'infectivité des femelles de simulies (moyenne arithmétique) à Madina Diassa en saisons sèche et humide

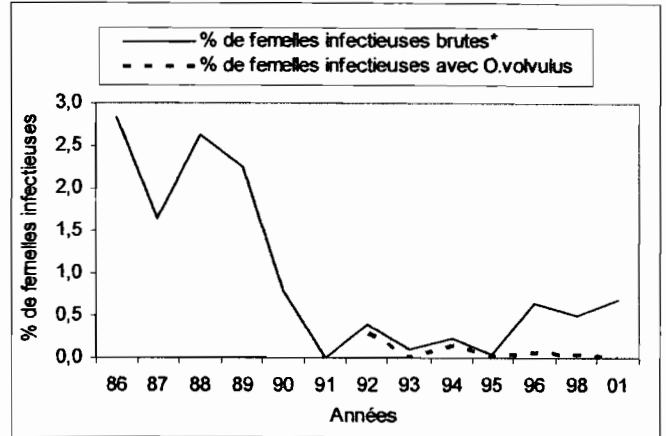
	MADINA DIASSA	MORIGBEDOUGOU	MUSAIA	TOTAL
Période	1992 - 2001	1992 - 1998	1993 - 1997	
Nombre de L3T ⁴ collecté	232	22	30	284
Nombre de femelles infectieuses	155	14	8	177
Nombre de femelles infectieuses (par <i>O. volvulus</i>)	15 (10%)	9	5	29
Nombre de femelles infectieuses (par <i>O. ochengi</i>)	17 (11%)	1	0	18
Nombre de femelles infectieuses (par autres espèces d'onchocerques)	123 (79%)	4	3	130

Tableau 1 : Répartition des femelles infectieuses et des infections par point

⁴ Larve de troisième au niveau de la tête de la similie

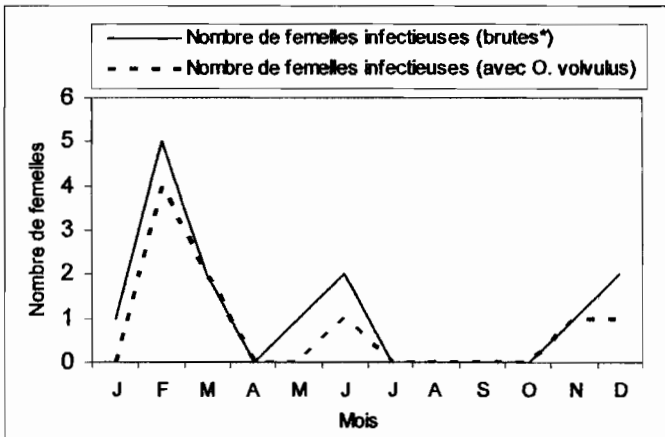


(10a) : Compilations mensuelles de 1992 à 2001

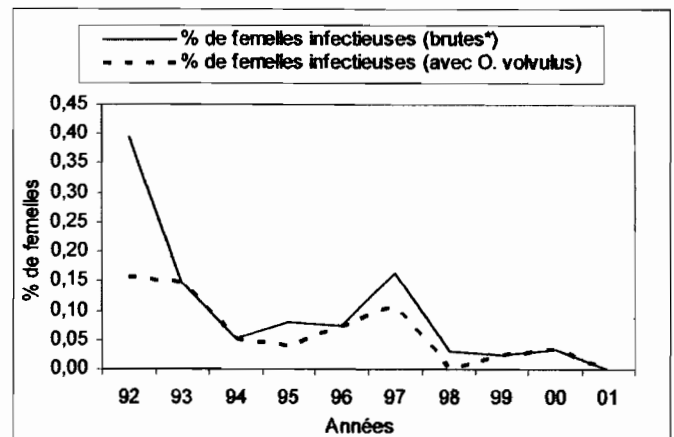


(10b) : Evolution des pourcentages de 1986 à 2001

Figures 10 (a & b) : Variations des femelles infectieuses à Madina Diassa
(* Tenant compte de toutes les espèces d'onchocerques)



(11a) : compilations mensuelles de 1992 à 2001



(11b) : Evolution du pourcentage de 1992 à 2001

Figures 11 (a & b) : Variations des femelles infectieuses à Morigbédougou
(* Tenant compte de toutes les espèces d'onchocerques)

Article 2

SPATIOTEMPORAL STUDY OF GENETIC VARIABILITY OF *SIMULIUM DAMNOSUM* S L. ON THE AXIS MALI - GUINEA - SIERRA LEONE.

Adjami A.G., Ravel S., Toé L., Sanfo M.S., Bissan Y., Yaméogo L. & Cuny G.

Présentation synthétique de l'article

1. Objectif :

Étudier le profil génétique et les flux géniques entre populations savanicoles migrantes.

2. Matériels et méthodes

Les femelles de *S. damnosum s.l.*, ont été capturées à Musaia (Sierra Leone), Morigbédougou (Guinée) et Madina Diassa (Mali), de décembre 2001 à juin 2002. La collecte a été réalisée en une journée de capture en vrac, une fois par mois et par site, soient 18 populations obtenues. Ces populations ont été analysées au niveau de quatre loci microsatellites.

3. Résultats

Les résultats montrent une absence de différenciation génétique entre populations analysées, montrant que ces dernières sont issues d'un même pool génique. Cette similarité génétique serait due à un important flux de gènes entre populations, confirmant ainsi les observations entomologiques.

4. Conclusions

L'étude de la structure génétique des populations de *S. damnosum s.l.* à l'aide de marqueurs microsatellites peut aider à la localisation des sources de migration.

SPATIOTEMPORAL STUDY OF GENETIC VARIABILITY OF *SIMULIUM DAMNOSUM* S L. ON THE AXIS SIERRA LEONE - GUINEA - MALI.

Adjami A.G.¹, Ravel S²., Toé L.¹, Sanfo M.S¹., Bissan Y¹., Yaméogo L³. & Cuny G².

"World Health Organisation - MultiDisease Surveillance Centre. 01 BP 549 Ouagadougou 01, Burkina Faso ; 2Institut de Recherche pour le Développement (IRD). Laboratoire de Recherches et de Coordination sur les Trypanosomoses. Campus International de Baillarguet. 34398 Montpellier cedex 5 ; 3World Health Organisation - African Programme for Onchocerciasis Control, 01 BP 549, Ouagadougou 01, Burkina Faso.

Abstract.

The species of *S. damnosum s.l.* in West African savannah, are known for their cyclic and seasonal migratory movements often associated to phenomena of invasion. We examined the genetic structure of these populations, along a migration axis from the North of Sierra Leone to the south-east of Mali through Guinea, at four microsatellite loci. Twenty populations sampled along this axis were analysed.

The distribution pattern of microsatellite alleles observed, indicates that populations were very similar, with no genetic differentiation prevailing between them. It further suggests that there is high rate of gene flow and no isolation by distance. These levels of gene flow, if the migrants are successful at reproducing, will lead to homogenisation of allele frequencies, and is the most likely explanation for lack of genetic differentiation among populations.

The result of this study can serve as a solid basis for more detailed future applications of *S. damnosum s.l.* microsatellite markers, such as monitoring the recrudescence of onchocerciasis.

Keywords: *Simulium damnosum s.l.*, gene flow, genetic differentiation, *Simulium sirbanum*, microsatellite markers

1. INTRODUCTION

The efforts carried out by OCP (Onchocerciasis Control Programme in West Africa) against onchocerciasis in West Africa, have brought the disease to a level where it neither constitutes a public health problem, nor an obstacle for socio-economic development. It is essential that an effective monitoring system be put in place to maintain this achievement. The human onchocerciasis vector in West Africa, *S. damnosum s.l.*, is able to migrate at long distances, being able to reach 500 kilometres (Garms et al., 1979 ; Johnson et al., 1985). These migrations can have significant epidemiological consequences, as vectors coming from active foci lodging parasites, can invade areas where onchocerciasis has been previously eliminated or controlled. The migratory movements of blackflies thus seem major concern in the context of onchocerciasis surveillance.

The traditional protocol for the description of insect migratory movements has recourse to the methods of capture-marking-releasing-recaptures, (Hagler & Jackson, 2001). It is a direct approach, which allows a real observation of displacements of insects. Unfortunately, due to the very small percentage of recaptures (0.002%, according to Thompson et al., 1972), these methods do not satisfy the study of displacements of blackflies. Other protocols use indirect approaches to study insect migration. This was the case with OCP, where the origin of the migrant blackflies which came to re-invade certain parts of the initial area of the program, was determined empirically after successive larviciding at all the rivers first in the south, then in the west of the invaded areas where, during the affected season, there were productive breeding sites of *S. damnosum s.l.*

Knowledge of population structure can also help to predict the migratory patterns of vector populations, provide epidemiological insights and may ultimately be invaluable for the design of more effective vector surveillance and control. Gene flow between populations of a species largely depends of the dispersal ability of the species and the presence of barriers to migration and / or reproduction (Tabachnick & Black, 1995).

A wide range of molecular markers has been used for population studies. These include chromosomal inversions, allozymes, random amplified polymorphic DNA, mitochondrial DNA sequences, and microsatellite loci analysis (Simard et al., 1999). Microsatellites are informative polymorphic DNA markers that are widely used to examine genetic diversity at the population

level in vectors of arthropod borne diseases such as *Anopheles funestus* (Cohuet et al., 2005), *Aedes aegypti* (Ravel et al., 2001 ; 2002), *Triatoma dimidiata* (Anderson et al., 2002), *Glossina palpalis* (Solano et al., 1999), and *Simulium damnosum s.l.* (Dumas et al., 1998).

In this paper, *Simulium sirbanum*, a savannah species of *S. damnosum s.l.* complex, known both as a good vector in savannah area and for its high magnitude migration distance, was studied. The goal of this work was to study the pattern of *S. sirbanum* gene flow and genetic differentiation across a broad geographic area of West African savannah. The specific objective was to determine whether there are genetically distinct subpopulations of *S. sirbanum*, using the distribution of the pattern of microsatellite allele frequencies.

2. MATERIAL AND METHODS

Study sites

Blackflies were collected in Guinea savanna area, in four sites : in Sierra Leone at Musaia (09°76'N, 11°58'W) and Yirafilaia (09°29'N, 11°20'W), in Guinea Conakry at Morigbedougou (10°10'N, 09°43'W) and in Mali at Madina Diassa (10°83'N, 7°63'W) (figure 1).

The climatic variables of Musaia, Morigbédougou and Madina Diassa (figures 2), were obtained from an interactive tool, CRU CL2.0 data set, (New et al., 2002), which provides a spatial data-set containing mean monthly climate data, covering the global surface for the period 1961-1990. In all three sites, precipitation is characterised by a maximum in August (figure 2a). Morigbédougou appears to have the highest precipitation rate, however on average has fewer days of rain than the other points. The variations of the temperatures are identical in the three points, with maximum values in March and April, and minimal ones in December and January (figure 2b).

The relative humidity peaks from May to November (figure 2c), while the curves of the insolation undergo an inflection beginning in May to reach its minimal value in August (figure 2d). This observation correlates well with the variations of the evapotranspiration (figure 2f). These weather parameters thus allow for the definition of two main climatic seasons in these sites of capture: rainy season from May to November and dry season from December to April.

Sampling and morphological identification of the females of *S. damnosum* s.l.

Female blackflies were collected during one day of capture carried out in the middle of each month, from December 2001 to June 2002. The bulk capture method was used for this study. This protocol does not take into account the time sections of collection. For the temporal analysis of the blackfly populations, we used samples collected in May 1996 and July 1997 in Morigbédougou.

The savannah females collected were identified by morphological criteria. These results, along with the data of cytotaxonomic analyses made by the OCP, showed that *S. sirbanum* is the principal savannah species present at the various points of the study.

Genetic analysis of specimens

DNA extraction, amplification at microsatellite loci and allele sequencing

Individual fly was homogenised in 200 µl of a 5% chelex 100 resin (Biorad, CA, USA) solution and incubated for 1 h at 56 °C and 30 min at 94 °C to obtain DNA. After centrifugation 10 µl of the supernatant (about 20ng of DNA) were used for subsequent DNA amplification. Primers developed previously for *S. damnosum* s.l. (Dumas et al., 1998) (see table 1) were used for Polymerase chain reactions (PCR). PCRs were carried out using a DNA thermal cycler (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) in 50 µl final volumes, containing 20 pmol of each primer, 0.2 mM of each deoxyribonucleotide, 1×X incubation buffer with 1.5 mM MgCl₂ (Quantum Appligène, Ilkirch, France) and 0.5 units of Taq DNA polymerase (Quantum Appligène, Ilkirch, France). Samples were initially denatured at 92 °C for 5 min and then processed through 40 cycles consisting of a denaturation step at 92 °C for 30 s, an annealing step at 50°C (or 48 °C for SS7/SS8) for 30 s and an extension step at 72 °C for 1 min. The final elongation step was lengthened to 10 min. Amplification products were checked by electrophoresis in 2% agarose gels and visualised by ethidium bromide staining (0.5 µg/ml) under UV light. Allele bands were then resolved in non-denaturing acrylamide gels (10%) and revealed by ethidium bromide staining. Each band of the most repeated allele was excised from the gel, boiled in water, re-amplified and purified using Wizard DNA Clean Up System (Promega Corporation, Madison, WI, USA). PCR purified fragments were cloned into pGEM-T

Easy Vector (Promega Corporation). Three clones of each cloned allele were sequenced using the T7 primer and the Big Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Sequences were analysed on a PE Applied Biosystems 310 automatic DNA sequencer (PE Applied Biosystems) and the exact size of each cloned allele has been determined. PCR products from these cloned alleles were run in the same acrylamide gel as the samples, allowing the allele size of the samples to be determined accurately.

Genetic characterisation of each fly

For each fly, DNA was extracted and amplified as described above. Then the exact size of at each microsatellite locus was determined on 10% polyacrylamide gel, by intercalating alleles previously sequenced, as molecular size maker.

Statistical analysis

Tests for linkage disequilibrium, genetic variability parameters for each population (number of distinct alleles, observed and expected heterozygosities under Hardy - Weinberg equilibrium), were conducted using GENEPOP software, version 3.3 (Rousset, 1997). The program applies exact tests according to Fisher, using the Markov chain algorithm described by Guo & Thomson (1992) to estimate unbiased exact P-values. The precision of the probability estimate of the differentiation test is reflected in the standard deviation of the probability. Long Markov chains increase the precision of the estimate. In this analysis, 400 000 steps were computed to obtain deviation of the estimate of below 0.009 in all tests.

F-statistics, used to partition the total genetic variation into the within (F_{IS}) and between (F_{ST}) population component, were calculated according to Weir & Cockerham (1984), by the procedure of FSTAT version 1.2. software (Goudet, 1995), which calculates the variance of F_{ST} estimator using bootstrap and jackknife resampling procedures.

Multilocus estimates of the effective number of migrants (N_m) per generation were calculated using the private-allele method of Slatkin (Slatkin, 1985) and were corrected for sample size as given in Barton & Slatkin (1986). The Mantel test (Mantel, 1967) available in GENEPOP was used to test hypothesis of isolation-by-distance. If there are no barriers or artificial enhancements to gene flow, Wright's island model predicts that populations will reach an equilibrium where genetic distance between populations is positively correlated with geographic

distance (Wright S. 1978). Departure from the null hypothesis may influencing genetic structure, such as genetic drift or fly migration.

3. RESULTS

Genetic variability and Hardy-Weinberg equilibrium

All four microsatellite loci showed high genetic variability, with the number of alleles detected at each locus ranging between 10 for locus SS9_SS10p and 13 for loci SS1_SS2 and SS3p_SS4 (Table 1). The number of distinct alleles per locus and per samples varied from 5 to 11 (table 2). Exact tests for linkage disequilibrium among all loci in each sample resulted in one (0.8%) significant P-values in 120 pairwise comparisons (six significant P-values are expected at 5% level). No significant values were obtained across all populations for any locus combination ($P > 0.05$ Fisher's exact test), indicating that the loci were independent. Mean observed heterozygosity per locus, varied between 59.5% (SS9_SS10p) and 77.4% (SS1_SS2) ; 49.1% (SS9_SS10p) and 70.4% (SS1_SS2) ; 38.3% (SS7_SS8) and 46% (SS9_SS10p) respectively in Musaia, Morigbédougou and Madina Diassa samples. In general, observed heterozygotes were lower than expected (Tables 2). Significant deviations from expected Hardy-Weinberg genotype proportions were observed in most of collections for different loci, but showed no association with any particular locus or sample.

Estimation of population differentiation

Estimates of F_{ST} indicated that genetic differentiation between *S. sirbanum* samples collected between December 2001 and June 2002 was effectively zero, suggesting that genotypes of the individuals result from the same gene pool, (Tables 3, 4, 5). The overalls F_{ST} were 0.032, 0.037 and 0.013 for pairwise populations of Madina Diassa and Morigbedougou, Morigbedougou and Musaia, and Madina Diassa and Musaia, respectively. No genetic differentiation is observed, when comparing F_{ST} of seasonals populations, by gathering the populations of dry season (collected from December to April) and rainy season (collected in May and June) (data not shown).

With an aim of estimating the effect of the "time" factor on population genetic differentiation, we compared the structure of *S. damnosum* savannah flies sampled over various years. F_{ST} was significantly different from zero at the 5% level after Bonferroni correction for all

pairwise comparisons between or with populations collected in July 1997 (Tables 3). In the same way, population of Yirafilaia collected in May 1996 (YR_mai96) and that of Musaia of June 2002 (MU_jun02) are genetically distinct from each other, $F_{ST} > 0.05$ (table 5).

Estimation of the effective number of migrants

The multilocus estimate of the effective number of migrants (N_m) per generation based on private alleles (Slatkin, 1985) are given in table 4. These values indicated an extensive amount of gene flow in *S. sirbanum*. The test for isolation by distance showed no significant correlation between F_{ST} and geographical distance in *S. sirbanum* populations.

4. DISCUSSION

The microsatellite markers used in this study to assess the level of genetic variation in *S. damnosum s.l.* savannah flies, showed high levels of genetic variation, with an average observed heterozygosity of 74.0% per locus. Mean number of alleles per locus agreed with results obtained in two *S. sirbanum* populations study of Mali (Dumas et al., 1998) in which 8 - 12 mean alleles per microsatellites locus were found.

There have been very few studies of *S. damnosum s.l.* at population level using molecular markers, so it is uncertain whether high levels of genetic variation are a general trait in *S. damnosum s.l.*. Allozymes have been used for the study of gene flow, but this approach has failed to exhibit sufficiently useful levels of polymorphism (Towson et al., 1987). Most molecular techniques developed for *S. damnosum s.l.*, have been used to study interspecific variability (Post & Flook, 1992 ; Tang et al., 1995a, 1995b, 1996a, 1996b ; Kruger et al., 2000 ; Morales-Hojas et al., 2002).

Deviations from expected Hardy-Weinberg proportions of allele frequencies were observed for some samples at different loci. In general, the observed heterozygosity was lower than expected. Non-conformity with Hardy-Weinberg suggests nonrandom mating, pooling of samples with different allele frequencies (Wahlund effect) or the presence of null alleles. The lack of association between significant Hardy-Weinberg deviations and particular samples and loci, and the fact that all alleles were amplifying generally, makes the presence of null alleles less likely. Then, population structuration is the most plausible explanation for these deficits in heterozygotes.

The major finding of this study was the absence of genetic differentiation between the populations. This result seems to have an explanation in the high migration rates, estimated from rare alleles (Slatkin, 1985), as testified by the very strong values estimated to the number of migrants : $27.23 < Nm < 30.86$. This multilocus estimate of the number of migrants (Nm) per generation using private alleles was in excess of what is generally considered necessary to prevent population differentiation, considering that little migration is required to prevent significant divergence among subpopulations (Cockerham 1973 ; Mills & Allendorf 1996). Further indicator of genetic homogeneity among samples were the lack of correlation between genetic divergence and geographical distance (isolation by distance).

This confirms the preceding studies which tend to show that the migration is an essential characteristic of *S. damnosum s.l.* in West African savannah. These migrations are favoured by two predominant meteorological forces which push against each other throughout the year, affecting the climate and the dispersal of blackflies. These forces are Monsoon and Harmattan fronts. The Monsoon winds prevail during the rainy season, are strongest in June - August, and moves blackflies from southwest to northeast during the rainy season (Magor & Rosenberg, 1980; Johnson et al., 1985). Harmattan winds prevail during the dry season, are strongest in January, moves blackflies from northeast to southwest during the dry season (Bissan et al., 1995; Adjami et al., *submitted*). The overall result produces a seasonal blackfly migration pattern along a northeast - southwest vector. This leads to a conclusion suggesting that the high dispersal ability of *S. damnosum s.l.* in combination with high migration rates, permitted a genetic mixing which tends to homogenise the populations and limit their differentiation. Mean pairwise F_{ST} over all loci was significant between populations of flies sampled over various years. We can hypothesise either a change of majors sources of invading flies, or a genetic changes among populations.

The entomological monitoring is an essential component of the overall device of onchocerciasis recrudescence monitoring, because any recrudescence of the disease in a given focus, will first be evident in the vector populations, by high rates of infectivity. This entomological monitoring is based on an efficient tool, the pool screening, to detect early infections in vectors (Katholi et al., 1995 ; Yameogo et al., 1999). However, this tool does not enable the determination of the origin of infected flies. In this context, the recourse to microsatellites markers can contribute to determining the sources of invasion, by comparing the genetic structures of the populations. In the same way, the use of the microsatellites markers

could contribute to a better comprehension of the migratory phenomena of vectors in the onchocerciasis persistent residuals foci and well-targeted strategies.

Acknowledgements

We would like to thank Drs B. Philippon and M. Boussinesq for the critically reviewing the first manuscript of this paper. We are also grateful to F. Aké and P. Niekema for their continued support in cartography. Sincere thanks are also extended to the entire technical staff of the previous OCP, especially in the vector control unit, who have contributed to the success of the OCP.

References

- Adjami A.G., Toé L., Sanfo M.S. & Bissan Y. Mouvements migratoires de *Simulium damnosum* s.l. sur l'axe Sierra Leone-Guinée-Mali : Analyse des données entomologiques et parasitologiques de 1977 à 2001. *Submitted*.
- Anderson JM, Lai JE, Dotson EM, Cordon-Rosales C, Ponce C, Norris DE, Beard CB. 2002. Identification and characterization of microsatellite markers in the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *Infect Genet Evol.* 1(3):243-8.
- Barton N.H. and Slatkin M. 1986. A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity* 56 : 409-415.
- Bissan Y, Hougard JM, Doucoure K, Akpoboua A, Back C, Poudiougou P, Sib AP, Coulibaly Y, Guillet P, Sesay I and Quillévéré. 1995. Drastic reduction of populations of *Simulium sirbanum* (Diptera: Simuliidae) in central Sierra Leone after 5 years of larviciding operations by the Onchocerciasis Control Programme. *Ann Trop Med Parasitol.* 89, N°1, 63-72.
- Cockerham CC. 1973. Analyses of gene frequencies. *Genetics*, 74, 679-700.
- Cohuet A, Dia I, Simard F, Raymond M, Rousset F, Antonio-Nkondjio C, Awono-Ambene PH, Wondji CS, Fontenille D. 2005. Gene flow between chromosomal forms of the malaria vector *Anopheles funestus* in Cameroon, Central Africa, and its relevance in malaria fighting. *Genetics*. 169(1):301-11.
- Dumas V, Herder S, Bebbia A, Cadoux-Barnabe C, Bellec C, Cuny G. 1998. Polymorphic microsatellites in *Simulium damnosum* s.l. and their use for differentiating two savannah populations: implications for epidemiological studies. *Genome*. 41(2):154-61.
- Garms R, Walsh JF, Davies JB. 1979. Studies on the reinvasion of the Onchocerciasis Control Programme in the Volta River Basin by *Simulium damnosum* s.l. with emphasis on the south-western areas. *Tropenmed Parasitol.* 30 (3) : 345-62.
- Goudet. 1995. FSTAT, Version 1.2 : acomputer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, 86, 485-486.

- Guo SW and Thompson EA, 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportions for multiple alleles. *Biometrics* 48:361-372.
- Hagler J.R. and Jakson C.G., 2001. Methods for marking insects : Current Techniques and future prospects. *Annu. Rev. Entomol.* 2001. 46:511-43.
- Johnson, C.G., Walsh, J.F., Davies, J.B., Clark, S.J. & Perry, J.N., 1985. The pattern and speed of displacement of females of *Simulium damnosum* Theobald s.l. (Diptera: Simuliidae) across the Onchocerciasis Control Programme of West Africa in 1977 and 1978. *Bulletin of Entomological Research* 75, 73-92.
- Katholi CR, Toe L, Merriweather A, Unnasch TR. 1995. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by polymerase chain reaction screening of pools of black flies. *J Infect Dis.* 172 (5) : 1414-7.
- Kruger A, Gelhaus A, Garms R. 2000. Molecular identification and phylogeny of East African *Simulium damnosum* s.l. and their relationship with west african species of the complex (Diptera: Simuliidae). *Insect Mol Biol.* 9 (1) : 101-8.
- Magor J.I. & Rosenberg L.J. 1980. Studies of winds and weather during migrations of *Simulium damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae), the vector of onchocerciasis in west Africa. *Bull. Entomol. Res.*, 70, 693-716.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res* 27:209-220.
- Mills L.S., Allendorf F.W. 1996. The one-migrant-per-generation rule in conservation and management. *Conservation Biology*, 10, 1509-1518.
- Morales-Hojas R, Post RJ, Cheke RA, Wilson MD. 2002. Assessment of rDNA IGS as a molecular marker in the *Simulium damnosum* complex. *Med Vet Entomol.* 16 (4) : 395-403.
- New M., Lister D., Hulme M. and Makin I., 2002. A high-resolution data set of the surface climate over global land areas. *Climate research* 21 : 1-25.
- Post RJ, Flook P. 1992. DNA probes for the identification of members of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). *Med Vet Entomol.* 6 (4) : 379-84.
- Ravel S, Herve JP, Diarrassouba S, Kone A, Cuny G. 2002. Microsatellite markers for population genetic studies in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cote d'Ivoire: evidence for a microgeographic genetic differentiation of mosquitoes from Bouake. *Acta Trop.* 82(1):39-49.
- Ravel S, Monteny N, Velasco Olmos D, Escalante Verdugo J, Cuny G. 2001. A preliminary study of the population genetics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico using microsatellite and AFLP markers. *Acta Trop.* 30; 78 (3):241-50.
- Rousset F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics.* 145 (4) 1219-1228.
- Simard F., Fontenille D., Lehmann T., Girod R., Brutus L., Gopaul R., Dournon C., and Collins F.H., 1999. High amounts of genetic differentiation between populations of the malaria vector

Anopheles arabiensis from west Africa and eastern outer islands. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 60 (6) pp. 1000-1009.

Slatkin M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 16: 393-430.

Solano P, de La Rocque S, Cuisance D, Geoffroy B, De Meeus T, Cuny G, DuVallet G. 1999. Intraspecific variability in natural populations of *Glossina palpalis gambiensis* from West Africa, revealed by genetic and morphometric analyses. *Med Vet Entomol.* 13(4):401-7.

Tabachnick W.J., Black W.C. IV. 1995. Making a case for molecular population genetic studies of arthropod vectors. *Parasitology today* 11 : 27-30.

Tang J, Pruess K, Cupp EW, Unnasch TR. 1996 b. Molecular phylogeny and typing of blackflies (Diptera: Simuliidae) that serve as vectors of human or bovine onchocerciasis. *Med Vet Entomol.* 10 (3) : 228-34.

Tang J, Toe L, Back C, Unnasch TR. 1995 b. Mitochondrial alleles of *Simulium damnosum sensu lato* infected with *Onchocerca volvulus*. *Int J Parasitol.* 25 (10) : 1251-4.

Tang J, Toe L, Back C, Unnasch TR. 1996 a. Intra-specific heterogeneity of the rDNA internal transcribed spacer in the *Simulium damnosum* (Diptera: Simuliidae) complex. *Mol Biol Evol.* 13 (1) : 244-52.

Tang J, Toe L, Back C, Zimmerman PA, Pruess K, Unnasch TR. 1995 a. The *Simulium damnosum* species complex : phylogenetic analysis and molecular identification based upon mitochondrially encoded gene sequences. *Insect Mol Biol.* 4 (2) : 79-88.

Thompson B.H., Walsh B. & Walsh J.F. 1972. A marking and recapture experiments on *Simulium damnosum* and bionomic observations. Unpublished document WHO/ONCHO/72.98.

Weir B.S. & Cockerham C.C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution*, 38, 1358-1370.

Wright S. 1978. Evolution and the genetics of populations IV. Variability within and among natural populations. Chicago. University of Chicago press.

Yameogo L, Toe L, Hougard JM, Boatn BA, Unnasch TR. 1999. Pool screen polymerase chain reaction for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum sensu lato*: results of a field trial in an area subject to successful vector control. *Am J Trop Med Hyg.* 60 (1) : 124-8.

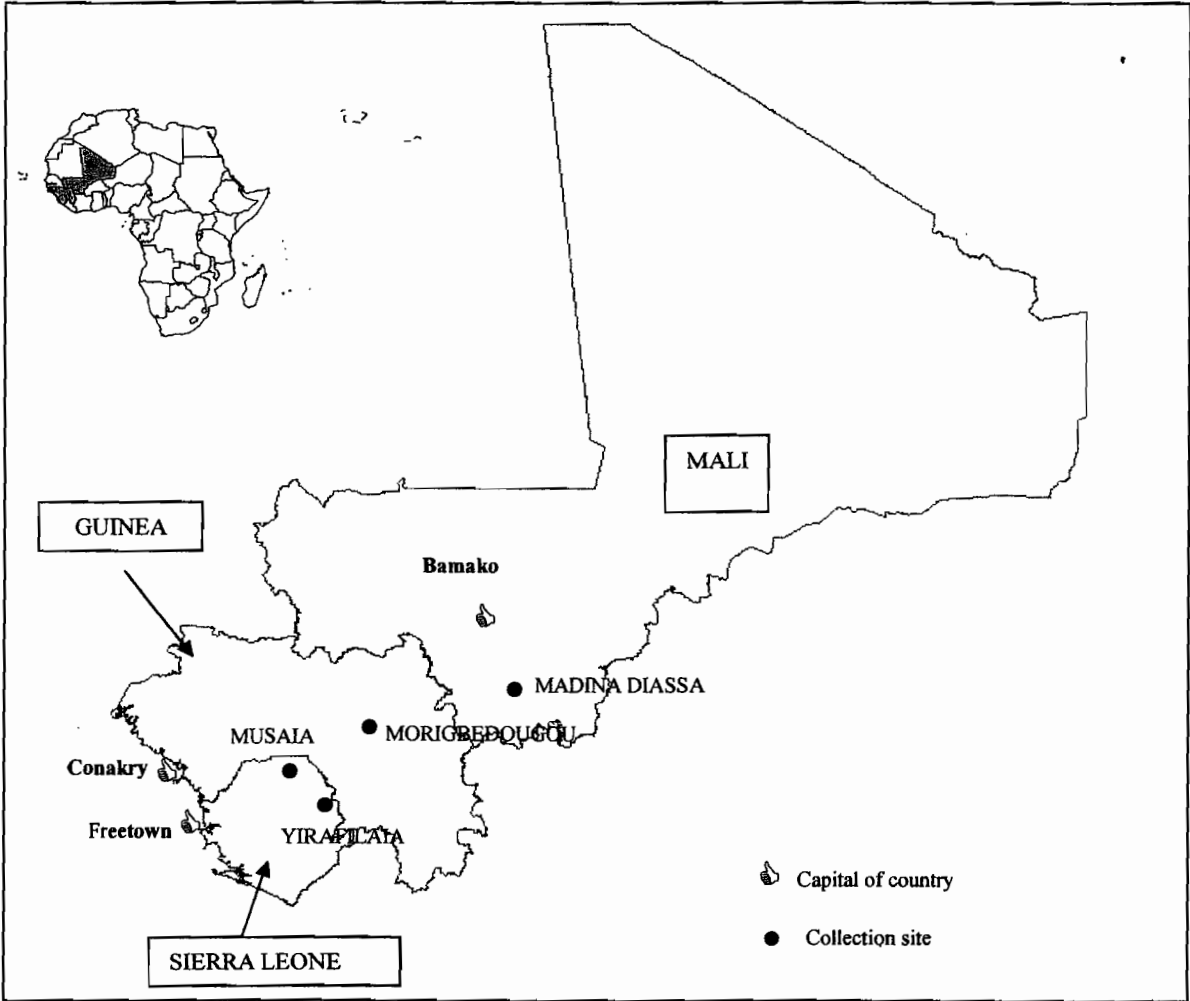
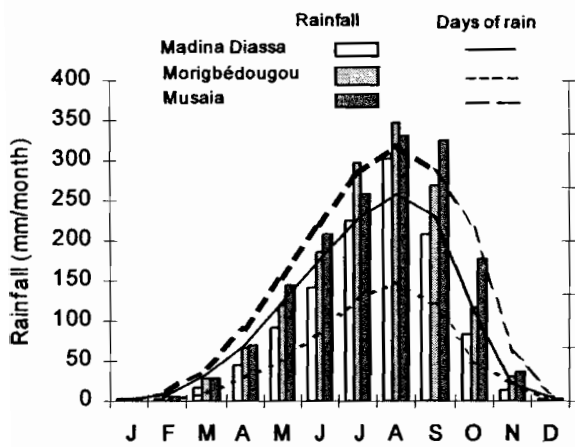


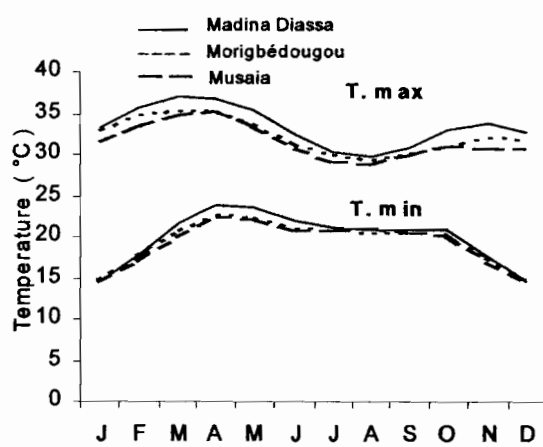
Figure 1 : Location of collection sites

200 km

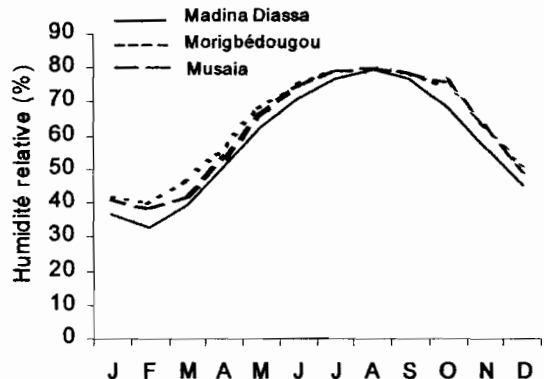
Figures 2 (2a-2f) : Climatic characteristics of the points of capture.



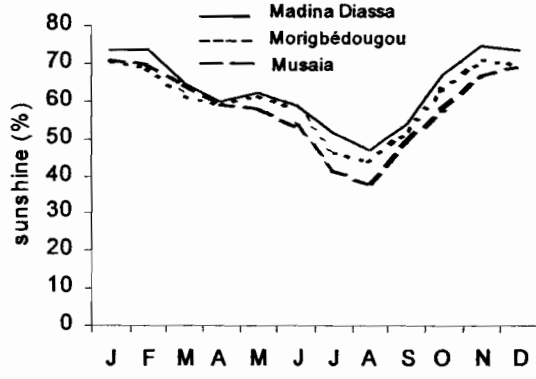
(2a) Variation of rainfalls and days of rain



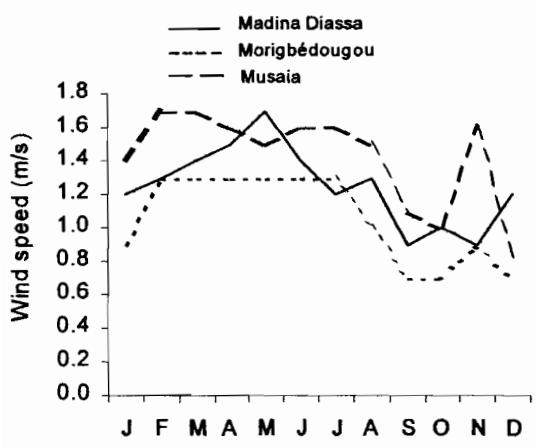
(2b) Variation of mean monthly temperatures



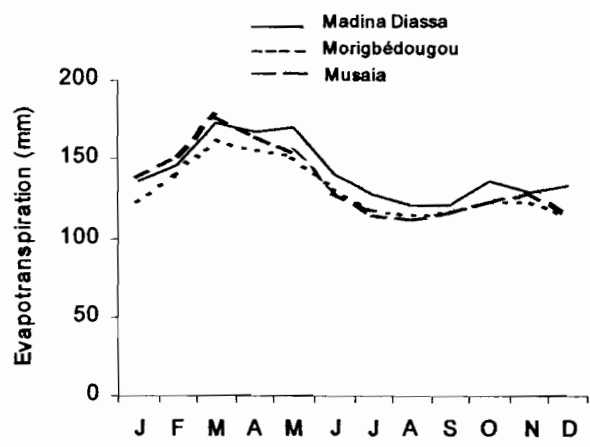
(2c) Variation of mean monthly relative humidity



(2d) Variation of sunshine



(2e) Mean monthly wind speed at 2 metre above the surface



(2f) Mean monthly of reference evapotranspiration

Table 1 : Microsatellite Loci and primers sequences

Locus	Repeated sequence	primers	Number of alleles in this study	Allele size range (base pairs)
SS1_SS2	(GT)AT(GT)AT(GT) ₁₀	5' CCCATTTGCCAGTTGAGGTGA 3' 5' CCCGTCAACATTGTGGCTACG 3'	13	179 - 197
SS3p_SS4	(GT)GC(GT) ₁₀	5' ATCATGACGAGGACGCACTC 3' 5' TACGCACACATTTTCTATTTC 3'	13	165 - 189
SS7_SS8	(GT) ₁₁ TT(GT)	5' CGCTAACGCTGTGCAATATTG 3' 5' TGACGAACCTTTGGGACGACA 3'	11	183 - 197
SS9_SS10p	(CAG) ₂ (CAA) ₁₀ (CAG)	5' CGAAAACAACATACGAAGGG 3' 5' AAATTTTAAATACGTACGAGGG 3'	10	129 - 162

Tables 2a_2c : Genetic variability at four microsatellite loci in 20 *Simulium sirbanum* samples, collected at Musaia and Yirafilaia (2a), at Morigbédougou (2b) and in Mali (2c). Tabulated are expected (H_E) and observed (H_O) heterozygoties, number of distinct alleles (No.dist.all.) scored for each locus.

(Exact probabilities for significant deviations from Hardy-Weinberg proportions were calculated using a Markov chain algorithm (dememorisation no.=1000, 400 batches 1000 iterations) according to Guo & Thomson (1992). * $P < 0.01$.)

Period of capture	Sample	Locus				
		SS1 SS2	SS3p SS4	SS7 SS8	SS9 SS10p	
12/2001	MU_Dec01	H_E	0.826	0.885	0.747	0.794
		H_O	0.789	0.777	0.764	0.750
		No.dist.all.	8	9	5	7
		N	20	20	20	20
02/2002	MU_Fev02	H_E	0.794	0.866	0.732	0.833
		H_O	0.789	0.842	0.736	0.736
		No.dist.all.	7	9	6	8
		N	19	19	19	19
04/2002	MU_Avr02	H_E	0.829	0.880	0.721	0.852
		H_O	0.800	0.789	0.800	0.700
		No.dist.all.	6	8	5	8
		N	20	20	20	20
06/2002	MU_Jun02	H_E	0.822	0.848	0.796	0.779
		H_O	0.818	0.727	0.545	0.636
		No.dist.all.	6	7	6	6
		N	11	11	11	11
Overall_MU		H_E	0.837	0.873	0.740	0.839
		H_O	0.797	0.791	0.731	0.714
		No.dist.all.	9	10	7	8
		N	70	70	70	70
05/1996	YR_Mai96	H_E	0.88	0.88	0.709	0.709
		H_O	0.70	0.615	0.55	0.55
		No.dist.all.	10	9	5	6
		N	20	20	20	20

(2a)

Period of capture	Sample		Locus				
			SS1 SS2	SS3p SS4	SS7 SS8	SS9 SS10p	
12/2002	MO_Dec01	H _E	0.838	0.896	0.740	0.829	
		H _O	0.750	0.800	0.736	0.700	
		No.dist.all.	8	11	6	8	
		N	20	20	20	20	
01/2001	MO_Jan02	H _E	0.820	0.728	0.688	0.817	
		H _O	0.750	0.700	0.700	0.750	
		No.dist.all.	8	7	5	7	
		N	20	20	20	20	
02/2002	MO_Feb02	H _E	0.820	0.892	0.715	0.821	
		H _O	0.750	0.800	0.650	0.750	
		No.dist.all.	7	9	6	6	
		N	20	20	20	20	
03/2002	MO_Mar02	H _E	0.815	0.873	0.756	0.774	
		H _O	0.750	0.700*	0.722	0.700	
		No.dist.all.	7	10	5	7	
		N	20	20	20	20	
04/2002	MO_Apr02	H _E	0.843	0.884	0.669	0.821	
		H _O	0.750	0.789*	0.600	0.750	
		No.dist.all.	7	8	5	8	
		N	20	20	20	20	
05/2002	MO_May02	H _E	0.865	0.891	0.769	0.797	
		H _O	0.750	0.800	0.736	0.750	
		No.dist.all.	8	10	5	7	
		N	20	20	20	20	
06/2002	MO_Jun02	H _E	0.859	0.843	0.745	0.774	
		H _O	0.800	0.700	0.700	0.666	
		No.dist.all.	7	8	5	7	
		N	20	20	20	20	
07/1997	MO_Jul97	H _E	0.87	0.96	0.80	0.772	
		H _O	1	0.44	0.72	0.44	
		No.dist.all.	9	11	7	6	
		N	20	20	20	20	
Overall_MO		H _E	0.861	0.881	0.797	0.836	
		H _O	0.794	0.719	0.691	0.700	
		No.dist.all.	11	12	11	10	
		N	140	140	140	140	

(2b)

Period of capture	Sample		Locus				
			SS1 SS2	SS3p SS4	SS7 SS8	SS9 SS10p	
12/2001	MD_Dec01	H _E	0.783	0.852	0.787	0.782	
		H _O	0.700	0.750*	0.705	0.736	
		No.dist.all.	5	8	6	8	
		N	20	20	20	20	
01/2002	MD_Jan02	H _E	0.749	0.887	0.787	0.814	
		H _O	0.737	0.700	0.722	0.684	
		No.dist.all.	5	12	5	8	
		N	20	20	20	20	
02/2002	MD_Fev02	H _E	0.791	0.835	0.821	0.810	
		H _O	0.699	0.700	0.800	0.695	
		No.dist.all.	6	9	6	7	
		N	20	20	20	20	
03/2002	MD_Mar02	H _E	0.847	0.855	0.683	0.807	
		H _O	0.750	0.777	0.789	0.750	
		No.dist.all.	8	8	5	7	
		N	20	20	20	20	
04/2002	MD_Avr02	H _E	0.832	0.857	0.748	0.803	
		H _O	0.700	0.750	0.789	0.750	
		No.dist.all.	8	9	5	7	
		N	20	20	20	20	
05/2002	MD_Mai02	H _E	0.833	0.835	0.716	0.817	
		H _O	0.789	0.750	0.650	0.800	
		No.dist.all.	8	8	6	7	
		N	20	20	20	20	
06/2002	MD_Jun02	H _E	0.805	0.880	0.759	0.814	
		H _O	0.850	0.736	0.650	0.750*	
		No.dist.all.	7	9	6	8	
		N	20	20	20	20	
Overall_MD		H _E	0.808	0.860	0.769	0.823	
		H _O	0.746	0.737	0.723	0.739	
		No.dist.all.	9	13	8	10	
		N	140	140	140	140	

(2c)

Table 3 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Madina Diassa & Morigbedougou.

	MD Dec01	MD Jan02	MD Feb02	MD Mar02	MD Apr02	MD May02	MD Jun02	MO Dec01	MO Jan02	MO Feb02	MO Mar02	MO Apr02	MO May02	MO Jun02	MO Jul97
MD_Dec01		-0.0034	0.0153	0.0154	-0.0058	0.0226	0.0050	0.0104	0.0352	-0.0010	0.0186	0.0172	0.0081	0.0179	0.1158
MD_Jan02			0.0082	0.0197	-0.0001	0.0170	0.0012	0.0107	0.0314	0.0141	0.0218	0.0138	0.0046	0.0129	0.1341
MD_Fev02				0.0115	0.0041	-0.0017	0.0009	0.0209	0.0355	0.0290	0.0074	0.0225	0.0036	0.0083	0.1090
MD_Mar02					0.0018	0.0158	0.0056	0.0059	0.0289	-0.0005	-0.0073	0.0050	0.0038	0.0024	0.1331
MD_Apr02						0.0086	-0.0035	-0.0057	0.0369	0.0015	-0.0004	-0.0018	0.0001	0.0013	1.1234
MD_May02							-0.0101	0.0213	0.0332	0.0318	0.0155	0.0295	-0.0051	-0.0037	0.1191
MD_Jun02								0.0070	0.0304	0.0074	0.0072	0.0139	-0.0116	-0.0141	0.1285
MO_Dec01									0.0142	-0.0070	-0.0046	-0.0107	0.0007	0.0079	0.1245
MO_Jan02										0.0044	0.0329	0.0170	0.0146	0.0317	0.1676
MO_Fev02											0.0018	-0.0091	0.0036	0.0076	0.1368
MO_Mar02												0.0057	0.0056	-0.0030	0.1383
MO_Apr02													0.0047	0.0056	0.1356
MO_May02														-0.0031	0.1178
MO_Jun02															0.1374
MO_Jul97															

Bolded values : Significantly different from zero at the 5% level after Bonferroni correction.

Table 4 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Madina Diassa & Musaia.

	MD Dec01	MD Jan02	MD Feb02	MD Mar02	MD Apr02	MD May02	MD Jun02	MU Dec01	MU Feb02	MU Apr02	MU Jun02
MD_Dec01		-0.0034	0.0153	0.0154	-0.0058	0.0226	0.0050	0.0168	0.0184	0.0171	0.0384
MD_Jan02			0.0082	0.0197	-0.0001	0.0170	0.0012	0.0164	0.0243	0.0107	0.0215
MD_Feb02				0.0115	0.0041	-0.0017	0.0009	0.0158	0.0350	0.0167	0.0278
MD_Mar02					0.0018	0.0158	0.0056	0.0042	0.0119	0.0057	0.0448
MD_Apr02						0.0086	-0.0035	-0.0041	0.0126	0.0072	0.0368
MD_May02							-0.0101	0.0100	0.0445	0.0201	0.0416
MD_Jun02								0.0030	0.0166	0.0040	0.0272
MU_Dec01									0.0068	-0.0029	0.0498
MU_Fev02										-0.0021	0.0370
MU_Avr02											0.0279
MU_Jun02											

Table 5 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Morigbedougou & Musaia.

	MO Dec01	MO Jan02	MO Feb02	MO Mar02	MO Apr02	MO May02	MO Jun02	MO Jul97	MU Dec01	MU Feb02	MU Apr02	MU Jun02
MO_Dec01		0.0142	-0.0070	-0.0046	-0.0107	0.0007	0.0079	0.1245	-0.0203	-0.0015	-0.0082	0.0374
MO_Jan02			0.0044	0.0329	0.0170	0.0146	0.0317	0.1676	0.0147	0.0237	0.0125	0.0701
MO_Feb02				0.0018	-0.0091	0.0036	0.0076	0.1368	0.0025	-0.0183	-0.0095	0.0242
MO_Mar02					0.0057	0.0056	-0.0030	0.1383	-0.0024	0.0036	0.0032	0.0527
MO_Apr02						0.0047	0.0056	0.1356	-0.0051	0.0027	-0.0183	0.0318
MO_May02							-0.0031	0.1178	-0.0063	0.0159	0.0001	0.0185
MO_Jun02								0.1374	0.0041	0.0148	-0.0007	0.0428
MO_Jul97									0.1265	0.1419	0.1274	0.1235
MU_Dec01										0.0068	-0.0029	0.0498
MU_Fev02											-0.0021	0.0370
MU_Avr02												0.0279
MU_Jun02												

Bolded values : Significantly different from zero at the 5% level after Bonferroni correction

Table 6 : Estimate of the effective number of migrants (Nm)

Population 1	Population 2	Nm
Madina Diassa	Morigbédougou	27.23
Morigbédougou	Musaia	28.34
Madina Diassa	Musaia	30.86

Table 7 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples collected over time

Loci	Fst (MO_jul97 & MO_jun02)	Fst (YR_mai96 & MU_jun02)
SS1_SS2	0.0587	0.0030
SS3p_SS4	0.0726	-0.0054
SS7_SS8	0.2198	0.2453
SS9_SS10p	0.1863	0.1141
Overall loci	0.1374 (P < 0.00010)	0.0951 (P < 0.00010)

DEUXIEME PARTIE :
Développement de tests diagnostics de l'onchocercose

Présentation synthétique de l'article

1. Objectif :

Développer un test diagnostique de l'onchocercose basé sur la PCR de débris cutané, en remplacement de la biopsie cutanée exsangue.

2. Matériels et méthodes

Principe du test : Détecter l'ADN d'*Onchocerca volvulus* par PCR de débris cutané collectés sur des porteurs de microfilaries.

Zone d'étude : L'étude a été menée en zone hyperendémique (Sassandra, Côte d'Ivoire) et en zone hypoendémique (Bougouriba, Burkina Faso) avec respectivement 732 et 1155 personnes âgées de 2 à 15 incluses dans l'étude.

Méthode : Collecter des débris cutanés de patients onchocerquiens par simple grattage de la couche superficielle du derme. Identifier *O. volvulus*, par amplification de la séquence « O-150 » sur ces débris cutanés. Evaluer la performance de ce test par rapport au test de référence de la biopsie cutanée.

3. Résultats

- Il a été possible d'identifier *O. volvulus* par PCR sur débris cutanés.
- Ce test diagnostique à une spécificité de 100% et une sensibilité de 92 % par rapport à la biopsie cutanée exsangue.
- Les prévalences de l'infection obtenues par la PCR des débris cutanés montrent une bonne corrélation avec celles obtenues par la biopsie cutanée exsangue classique ($r^2 = 0.99$; $P < 0.001$).
- Les prévalences de l'infection estimées par la PCR des débris cutanés sont environ cinq fois plus élevées que celles estimées par la biopsie cutanée exsangue classique.

4. Conclusions

Le test diagnostique de PCR de débris cutanés est capable de détecter les faibles charges parasitaires des personnes infectées. La bonne corrélation entre les prévalences estimées par ce test et la biopsie cutanée exsangue fait de la PCR de débris cutanés une bonne alternative à la biopsie cutanée.

Article 3 :

Journal of Infectious Diseases (1998) 178. p 282-285.

**Detection of *Onchocerca volvulus*
Infection by O-150 Polymerase Chain Reaction
Analysis of Skin Scratches**

Toé L., Boatin B.A., Adjami A.G., Back C., Merriweather A. and Unnasch T.R

Detection of *Onchocerca volvulus* Infection by O-150 Polymerase Chain Reaction Analysis of Skin Scratches

Laurent Toé, Boakye A. Boatin, Aime Adjami,
Christian Back,* Anthony Merriweather,
and Thomas R. Unnasch

*Onchocerciasis Control Programme in West Africa, Ouagadougou,
Burkina Faso; Division of Geographic Medicine, University of Alabama
at Birmingham, Birmingham, Alabama*

The standard assay for onchocerciasis diagnosis is microscopic detection of parasites in skin snips. Skin snipping is painful and may potentially transmit bloodborne infections. Thus, an alternative method for the diagnosis of onchocerciasis that does not require skin snipping is needed. A polymerase chain reaction (PCR)-based assay was shown to detect the presence of parasite DNA in superficial skin scrapings. Detection of parasite DNA in both skin snips and skin scratches was found to be more sensitive for detecting low-density infections than was microscopic examination of skin snips. The skin scratch PCR assay is minimally invasive and painless and does not present the risk of transmitting bloodborne infections. These properties make the skin scratch an attractive alternative to the skin snip for detecting *O. volvulus* infection.

Onchocerciasis, or river blindness, is caused by infection with the filarial parasite *Onchocerca volvulus*. When measured in terms of the socioeconomic effects on afflicted communities, onchocerciasis is one of the most important infectious diseases worldwide [1]. As a result of the large socioeconomic impact of the disease, several international programs underway in Africa and the Americas have the goal to eliminate onchocerciasis as a socioeconomic and public health problem [1, 2].

In any disease control program, it is important to have safe and effective diagnostic methods available. The classical method of detecting *O. volvulus* infection consists of microscopically examining small skin biopsies (skin snips) for the presence of *O. volvulus* microfilariae [3]. However, this method is invasive, painful, and relatively insensitive.

Recent studies have shown that the detection of parasite DNA in extracts prepared from skin snips is more sensitive than microscopy [4]. This method is based on polymerase chain reaction (PCR) amplification of an *O. volvulus*-specific repeated sequence, designated O-150 [5]. However, this procedure still requires the collection of a skin snip. It is known that

O. volvulus microfilariae reside in the uppermost layers of the dermis [6] and may be detected by skin scarification [7]. We therefore hypothesized that it might be possible to detect *O. volvulus* DNA in the skin of infected persons, without resorting to skin biopsy, by using the O-150 PCR.

Materials and Methods

The initial study was conducted in the village of Gnankoradji, Côte d'Ivoire. Gnankoradji is located in the southwestern corner of Côte d'Ivoire in the rain forest zone, and at the time of the study was outside of the Onchocerciasis Control Programme (OCP) control area. In total, 99 children and young adults were enrolled in the study. Children and young adults were chosen because they form the most suitable population for measuring incidence of *O. volvulus* infection in areas subject to control, due to the extremely long life span of the adult parasite [8]. The study population consisted of 55 male and 44 female subjects with a mean age of 8.5 years (range, 2–15). The geometric mean of microfilarial counts in the study population was 0.18 microfilariae per skin snip.

After the Gnankoradji study, similar studies were carried out in four villages in southern Burkina Faso (Habrè, Diourao, Zoulo, and Fougou). These villages are located in the savanna bioclimate of West Africa and are included within the OCP control zone. The study populations in these villages were similar in age and sex to the population in Gnankoradji. The geometric means of microfilariae counts per snip in these villages were as follows: Fougou = 0.0, Zoulo = 0.06, Habrè = 0.01, and Diourao = 0.05.

Four samples were obtained from each individual enrolled in the Gnankoradji study. Two of these were skin scratch samples, consisting of bilateral skin scrapings that were collected by scraping the hip area with the blunt edge of a disposable blood lancet. Care was taken to ensure that the skin was not broken during the scraping procedure. Only the superficial layer of the epidermis was removed, so as not to cause erythema at the sample site. The mean weight of each skin scratch sample was 120 µg. Lancets containing the scraped material were placed into a 1.5-

Received 22 September 1997; revised 11 February 1998.

Presented: 45th annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Baltimore, 1–5 December 1996 (abstract 325).

Informed consent was obtained from all participants (or their guardians) who were enrolled in this study. The study followed the guidelines established by the World Health Organization and received approval from the University of Alabama at Birmingham Institutional Review Board for Human Use.

Grant support: Onchocerciasis Control Programme in West Africa (to T.R.U.).

Reprints or correspondence: Dr. Thomas R. Unnasch, Division of Geographic Medicine, BBRB Box 7, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL 35294-2170 (trunnasch@geomed.dom.uab.edu).

* Present address: 5970 Dolbeau, Montreal, Quebec, Canada H3S 2G2.

The Journal of Infectious Diseases 1998;178:282–5

© 1998 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.
0022-1899/98/7801-0040\$02.00

mL microcentrifuge tube and stored dry at ambient temperature. At the beginning of the sample collection procedure, and following the collection of samples from every 10 individuals enrolled in the study, skin scrapings were taken in an identical manner from two US nationals who had never been exposed to *O. volvulus*. Bilateral skin snips were also taken from each individual following standard techniques [3]. The samples were microscopically examined for the presence of microfilariae following a 30-min incubation in distilled water. The skin snip and associated liquid were then placed in a solution consisting of 50 mM EDTA (pH 8.0) and stored at ambient temperature.

DNA was prepared from the skin snips as previously described [9]. To prepare DNA from the skin scratch samples, 50 μ L of 10 mM Tris-HCl (pH 8.0) plus 1 mM EDTA was added to the microcentrifuge tube containing the blood lancet, and the tube was mixed to elute the material adhering to the lancet. The liquid in the tube was collected by brief centrifugation, and the DNA was purified from the samples following the protocol developed for skin snips [9].

Skin snip samples were PCR-analyzed as described in detail elsewhere [10]. In brief, DNA purified from the skin snips served as templates to amplify the O-150 repeat sequence, using primers 5'-GATTYTTCCGRCGAANARCGC-3' and 5'-GCNRTTAA-ATNTGNAAATTC-3'. Reactions consisted of 25 cycles of 1 min at 95°C, 2 min at 37°C, and 30 s at 72°C, followed by a 7-min extension at 72°C in a solution containing 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 6 mM MgCl₂, 0.01% gelatin, each dNTP at 200 μ M, each primer at 0.5 μ M, and 1.25 U of TaqI DNA polymerase (Applied Biosystems, Norwalk, CT). Skin scratch samples were subjected to the same amplification conditions as the skin snips, with the exception that the number of cycles was increased from 25 to 40.

After PCR, the amplification products were detected by Southern blotting, followed by hybridization with the *O. volvulus*-specific oligonucleotide OVS-2, as previously described [10]. In the Gnankoradji study, 1 set of paired samples from each individual consisting of 1 skin snip and 1 skin scratch was analyzed in the OCP laboratory in Bouake, Côte d'Ivoire, while the second pair was analyzed at University of Alabama at Birmingham to confirm that the technique produced reproducible results in two independent laboratory settings. The subsequent samples collected in the four villages in Burkina Faso were analyzed solely by the OCP laboratory.

Results

The initial study to determine if it was possible to detect parasite DNA in the epidermis of infected persons was carried out in Gnankoradji, Côte d'Ivoire. We discovered that it was possible to amplify the O-150 repeat family from DNA extracted from the majority of the skin scratch samples collected (table 1, bottom). In contrast, all samples collected simultaneously from unexposed persons were negative on PCR amplification (data not shown). Results from the skin scratch PCR assay were compared with those from microscopic and O-150 PCR assays of the bilateral skin snip samples collected from

Table 1. Comparison of microscopic examination and the O-150 PCR assays.

Microscopy result	Snip PCR positive	Snip PCR negative
	Scratch PCR positive	Scratch PCR negative
Positive	12	0
Negative	74	13
Positive	11	1
Negative	66	20

Data are no. of samples.

all enrollees. As expected, 100% (12/12) of the skin snips found to contain microfilariae by microscopic examination were positive in the skin snip O-150 PCR assay (table 1, top), giving a calculated sensitivity of 100% relative to the skin snip. However, 85% of persons found to be negative by microscopic examination of the skin snip were positive in the O-150 skin snip PCR assay (table 1, top). Overall, microscopic examination of the skin snips produced an estimated prevalence of infection of 12% in the study population, while the O-150 PCR assay, when performed on DNA isolated from the skin snips, produced a prevalence of 87%.

The results produced from the PCR assay on the DNA prepared from the skin scratch samples were quite similar to those obtained from the PCR assay performed on the skin snip samples. In this case, 11 of the 12 individuals with microscopically detectable microfilariae were positive in the skin scratch PCR assay (table 1, bottom), giving a calculated sensitivity of 92% relative to the skin snip. Furthermore, 77% of those with no microscopically detectable microfilariae were positive in the skin scratch PCR (table 1, bottom). The PCR scratch assay predicted an overall prevalence of infection of 78% in the study population.

Because only a small number of individuals in the study population were negative by the skin scratch PCR, the assay was further evaluated on samples collected from a population residing in Birmingham, where *O. volvulus* is not endemic. None of the 40 skin scratch samples collected from this population produced a positive PCR result. Thus, the calculated specificity of the scratch assay, when tested on a known negative population, was 100%. This is consistent with previous studies, which have also demonstrated a high degree of specificity of the skin snip PCR assay for the detection of *O. volvulus* infection in humans [4].

Similar studies were then conducted on a total of 553 persons from four villages in Burkina Faso. These villages exhibited various prevalences of *O. volvulus* infection as measured by microscopic examination of skin snips and by skin scratch PCR assay (table 2). A linear relationship was found to exist between

Table 2. *O. volvulus* infection prevalences measured by microscopic examination of skin snips and skin scratch PCR.

Country, village	Microfilariae prevalence*	Scratch PCR prevalence†
Burkina Faso		
Foungou	0	14
Habrè	1.2	15.4
Diourao	2.8	30.8
Zoulo	8.2	54
Côte d'Ivoire		
Gnankoradji	13	79

* By microscopic examination of skin snips.

† By PCR analysis of skin scratch samples.

the prevalence as measured by microscopy and the prevalence as measured by the skin scratch PCR assay ($r^2 = .99$, $P < .001$). The slope of the line defining this relationship was 5.1. Thus, in the five different villages examined, the prevalence of infection as measured by the skin scratch PCR assay was roughly 5-fold greater than that measured by microscopic examination of skin snips.

Discussion

The results we present demonstrate that the O-150 PCR assay may be used to detect *O. volvulus* DNA in skin scrapings collected from infected persons. This assay is not as sensitive as performing the O-150 assay directly on skin snips. However, the assay overcomes the disadvantages inherent in the collection of skin snips and is less invasive and painful than even the collection of the fingerprick blood samples needed to carry out serologic assays. Furthermore, since the assay relies on the use of disposable blood lancets, and the integrity of the skin of the individual tested is not breached, the assay carries no risk for the transmission of bloodborne infections. This is in contrast to the skin snip, which requires a relatively expensive sclerodermal punch that needs to be sterilized following sample collection from each individual. The advantages, when taken together, make the skin scratch assay a potentially valuable alternative to assays that rely on the collection of skin snips.

The prevalence of infection measured by either PCR assay was roughly 5-fold greater than that determined by microscopic examination of the skin snips. It is possible that the high number of positives seen in the PCR assay may have been due to cross contamination of the samples. This is unlikely, since negative control samples collected simultaneously showed no evidence of cross contamination. The results presented here, together with those of previous studies [4], further suggest that the O-150 PCR assay is highly specific when used on samples collected from populations in areas where *O. volvulus* is not endemic.

It is possible that the high number of positives seen in our studies were a result of amplification of a sequence similar to the O-150 family present in an undefined organism found on the skin of rural African children. If this was the case, one would expect to find a poor relationship between the prevalence of infection measured by the skin scratch PCR and that measured by microscopy. However, there was a good relationship between the prevalence as measured by skin scratch PCR and that measured by microscopy.

Finally, it is possible that the PCR tests are a much more sensitive method of detecting *O. volvulus* infection than the skin snip. This has previously been documented to be the case for skin snip PCR [4], except in cases where the skin snip is carefully examined for the presence of microfilariae following collagenase digestion [11]. This finding has been corroborated by earlier studies, which show that the microscopic skin snip assay is relatively insensitive for the detection of low-density infections [12, 13].

The results presented above suggest that the skin scratch PCR is capable of detecting low-density infections of *O. volvulus*. However, it is clear that the pathologies associated with *O. volvulus* infection are strongly related to the density of microfilariae in the individual and the intensity of infection in the community as a whole [14]. The contribution that low-density infections make to the intensity of transmission is also unclear. Thus, more research will be needed to determine the potential contribution of low-density infections to transmission and the potential pathogenic burden in communities with endemic *O. volvulus*.

Acknowledgments

We express our sincere appreciation to the members of the Onchocerciasis National Teams of Côte d'Ivoire and Burkina Faso for assisting in the collection of samples. We also express our thanks to the Director of the OCP, K. Y. Dadzie, for his support of this research and to the members of the Planning, Evolution and Transfer and Vector Control units of the OCP for their helpful comments and critical review of this manuscript.

References

1. World Health Organization. Onchocerciasis and its control. Geneva: WHO, 1995.
2. Remme JHF. The African Programme for Onchocerciasis Control: preparing to launch. *Parasitol Today* 1995;11:403–6.
3. Proust A, Prod'hon J. Le diagnostic parasitologique de l'onchocercose, revue critique des méthodes en usage. *Med Trop* 1978;3:519–32.
4. Zimmerman PA, Guderian RH, Aruajo E, et al. Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection: improved detection of patients with onchocerciasis. *J Infect Dis* 1994;169:686–9.
5. Zimmerman PA, Toé L, Unnasch TR. Design of onchocerca DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol Biochem Parasitol* 1993;58:259–69.

6. Kershaw WE, Jamison DG, Nugent D, Duke BOL. Preliminary observations on the depth distribution of the microfilariae of *Onchocerca volvulus* in the skin and its relation to the reservoir of infection to the fly. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1956;50:6.
7. Newell ED. Comparison of the use of skin scarification and skin biopsies to determine the prevalence and intensity of *Onchocerca volvulus* infection. *Ann Trop Med Parasitol* 1997;91:633–42.
8. Plaisier AP, van Oortmarssen GJ, Remme J, Habbema JDF. The reproductive lifespan of *Onchocerca volvulus* in West African savanna. *Acta Trop* 1991;48:271–84.
9. Meredith SEO, Lando G, Gbakima AA, Zimmerman PA, Unnasch TR. *Onchocerca volvulus*: application of the polymerase chain reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp Parasitol* 1991;73:335–44.
10. Unnasch TR, Meredith SEO. The use of degenerate primers in conjunction with strain and species oligonucleotides to classify *Onchocerca volvulus*. In: Clapp JP, ed. *Species diagnostic protocols: PCR and other nucleic acid methods*. Vol 50. Totowa, NJ: Humana Press, 1996:293–303.
11. Fischer P, Rubaale T, Meredith SEO, Buttner DW. Sensitivity of a polymerase chain reaction–based assay to detect *Onchocerca volvulus* DNA in skin biopsies. *Parasitol Res* 1996;82:395–401.
12. Collins RC, Brandling-Bennett AD, Holliman RB, Campbell CC, Darsie RF. Parasitological diagnosis of onchocerciasis: Comparisons of incubation media and incubation times for skin snips. *Am J Trop Med Hyg* 1980;29:35–41.
13. Taylor HR, Keyvan-Larijani E, Newland HS, White AT, Greene BM. Sensitivity of skin snips in the diagnosis of onchocerciasis. *Trop Med Parasitol* 1987;38:145–7.
14. Remme J, Dadzie KY, Rolland A, Thylefors B. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community I. West African savannah. *Trop Med Parasitol* 1989;40:340–7.

Humoral Immune Responses of Africans to Cysteine Protease–Related Antigens of *Plasmodium falciparum*

Dennis O. Gor and Philip J. Rosenthal

Department of Medicine, San Francisco General Hospital, University of California, San Francisco

The *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen (SERA) and serine repeat protein homologue (SERPH) contain highly conserved domains that appear to encode cysteine proteases or related proteins. Humoral immune responses against the protease domains of SERA and SERPH were evaluated. Malaria-immune Africans, but not nonimmune controls, demonstrated potent humoral responses against the protease domains. As the SERA and SERPH protease domains are likely accessible to circulating antibody, these results suggest that humoral responses to the domains may contribute to antimalarial immunity.

Despite extensive efforts, the development of a broadly effective malaria vaccine remains an elusive goal. Contributing to difficulties in vaccine development, malarial proteins that are exposed to the human immune response are often antigenically diverse, and immunologic pressure appears to elicit antigenic variation [1]. It seems appropriate, therefore, to consider as vaccine components malarial proteins that are targets of the host immune response but that are antigenically conserved. Among such proteins should be essential enzymes that are conserved because of the constraints imposed by their enzymatic functions.

The *Plasmodium falciparum* serine repeat antigen (SERA) [2] is one of a number of erythrocytic-stage malarial proteins

that are being studied as potential vaccine components [1]. SERA appears to be located in the parasitophorous vacuole surrounding the intraerythrocytic schizont [3] and on the surface of free merozoites [4], so it is likely accessible to circulating antibodies and other mediators of the host immune response. Supporting the consideration of SERA as a vaccine component, immunization with intact SERA [5] and amino-terminal SERA fragments [6] induced protective immunity in monkeys. The role of the carboxy-terminal portion of SERA in immune responses has been relatively little studied, although a hybrid vaccine that included carboxy-terminal SERA fragments also induced protective immunity in monkeys [7], and rat antisera produced against this portion of SERA inhibited the growth of malaria parasites in vitro [8]. In addition, in studies of carboxy-terminal fragments of SERA homologues from the murine parasite *Plasmodium vinckei*, mice immunized by serial infection and drug cure demonstrated humoral and cellular immune responses against the fragments, and naive mice immunized with one of the fragments were partially protected against lethal malaria [9].

Sequence comparisons of SERA [2] and a related schizont protein, the serine-rich protein homologue (SERPH) [10], show

Received 10 October 1997; revised 23 January 1998.

Financial support: NIH (AI-36463); American Heart Association (P.J.R. is an Established Investigator).

Reprints or correspondence: Dr. Philip Rosenthal, Box 0811, University of California, San Francisco, CA 94143-0811 (rosnthl@itsa.ucsf.edu).

The Journal of Infectious Diseases 1998; 178:285–8

© 1998 by the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved.
0022-1899/98/7801-0041\$02.00

Article 4 :

Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene (2000) 94, 519-525.

**Topical application of diethylcarbamazine to detect
onchocerciasis recrudescence in West Africa.**

Toé L., Adjami A.G., Boatin B.A., Back C., Soumbey E.A., Dembélé N., Brika G.P.,
Pearlman E. and Unnasch T.R..

Topical application of diethylcarbamazine to detect onchocerciasis recrudescence in West Africa

Laurent Toë¹, Aïme G. Adjami¹, Boakye A. Boatin¹, Christian Back¹, E. Soumbeï Alley¹, Noumouzan Dembélé^{1,2}, Pierre G. Brika², Eric Peariman³ and Thomas R. Unnasch⁴ ¹Onchocerciasis Control Programme in West Africa, B. P. 539, Ouagadougou, Burkina Faso; ²Onchocerciasis Control, Côte d'Ivoire, Bouaké, Côte d'Ivoire; ³Division of Geographic Medicine, Case Western Reserve University, Cleveland, OH, USA; ⁴Division of Geographic Medicine, University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA

Abstract

The Onchocerciasis Control Programme in West Africa (OCP) has succeeded in eliminating blinding onchocerciasis as a public health problem throughout much of West Africa. The efforts of the OCP are now turning towards surveillance, with the goal of rapidly detecting and controlling outbreaks of infection in the onchocerciasis-free zone. With this goal in mind, cutaneous application of a solution of diethylcarbamazine (the DEC-patch test) was evaluated in 1996–99 as a method to detect patent *Onchocerca volvulus* infection in children and adolescents, a sentinel population for the detection of recrudescence. In an analysis of 1887 individuals in Côte d'Ivoire and Burkina Faso, the DEC-patch test produced prevalence estimates comparable to those obtained by skin snip. The sensitivity of the DEC-patch assay was marginally greater in children and adolescents than in adults, and was greater in individuals who had received prior MectizanTM treatment. These data suggest that the DEC-patch test may be a useful tool for detecting recrudescence of *O. volvulus* infection in a sentinel population of children and young adults within the onchocerciasis-free zone created by the OCP.

Keywords: onchocerciasis, *Onchocerca volvulus*, recrudescence, surveillance, diethylcarbamazine patch assay, Côte d'Ivoire, Burkina Faso

Introduction

Onchocerciasis is caused by infection with the filarial parasite *Onchocerca volvulus*. Historically, onchocerciasis has had an enormous impact on socio-economic development in sub-Saharan West Africa (WHO, 1995). Because of this, the international community initiated a programme in 1975 to eliminate blinding onchocerciasis as a public health problem in West Africa. This programme, known as the Onchocerciasis Control Programme in West Africa (OCP) has been strikingly successful in meeting this goal in the 11 countries of West Africa where the programme has been active (BOATIN *et al.*, 1997). As a result of the OCP's success, much of West Africa is now free of blinding onchocerciasis and the efforts of the programme are now turning to surveillance, with the goal of rapidly detecting and controlling outbreaks of infection in the onchocerciasis-free zone (MOLYNEUX & DAVIES, 1997).

In developing a surveillance programme to detect recrudescence of infection in the OCP area, a safe, inexpensive and rapid diagnostic test for *O. volvulus* infection is needed. The classical method to detect *O. volvulus* infection consists of examining small skin biopsies (skin snips) by microscopy for the presence of *O. volvulus* microfilariae (PROUST & PRODHON, 1978). However, the collection of skin snips is invasive, which necessitates precautions to prevent the transmission of blood-borne infections. The process is also relatively painful, which may result in poor compliance from the community, especially in communities subjected to repeated tests. Because of these difficulties, much effort has been expended to develop an assay capable of replacing the microscope examination of a skin snip. Assays have been developed which employ recombinant antigens to detect the presence of antibodies to *O. volvulus* [see RAMACHANDRAN (1993) and BRADLEY & UNNASCH (1996) for reviews]. These assays have the potential advantage of detecting pre-patent infections (LOBOS *et al.*, 1991; OGUNRINADE *et al.*, 1992), and may be performed on fingerprick blood samples. However, because these methods measure the immune response

elicited upon exposure to parasite antigen, they cannot distinguish prior exposure to the parasite from patent infection.

Studies have shown that the detection of parasite DNA in extracts prepared from skin snips or skin scratches is more sensitive than microscopy (TOË *et al.*, 1998; ZIMMERMAN *et al.*, 1994). This method is based upon polymerase chain reaction (PCR) amplification of an *O. volvulus*-specific repeated sequence, designated O-150 (ZIMMERMAN *et al.*, 1993). Because this assay relies upon the presence of parasite DNA, it detects only individuals patently infected with the parasite. However, the PCR assay requires a laboratory equipped for molecular biology and is relatively expensive when used to screen large numbers of individual samples, reducing its appeal as a routine screening test.

Systemic treatment of *O. volvulus*-infected individuals with diethylcarbamazine (DEC) often results in the development of a massive pruritic skin rash (the so-called Mazzotti reaction) (MAZZOTTI, 1948). Although this makes DEC treatment of *O. volvulus* infection impractical, the Mazzotti reaction has been exploited as a diagnostic tool. Topical application of DEC dissolved in skin cream elicits a localized reaction similar to the more generalized Mazzotti reaction in *O. volvulus*-infected individuals (STINGL *et al.*, 1984; NEWLAND *et al.*, 1987). This DEC-patch assay has been found to produce results with varying degrees of sensitivity, ranging from 30% to 92% in skin snip-positive individuals (STINGL *et al.*, 1984; NEWLAND *et al.*, 1987; KILIAN, 1988). Taken together, these studies have suggested that the DEC-patch test may be a useful predictor of endemicity of *O. volvulus* infection. However, the geographical variation in sensitivity meant that it was not useful as a diagnostic tool to diagnose individual infection.

There is currently no therapy available that effectively and safely eliminates the adult stage of *O. volvulus* (PLAISIER *et al.*, 1991). In the face of such a long-lasting infection, the incidence of infection or recrudescence is difficult to measure in an area subject to control by examination of the population as a whole. It has therefore been suggested that recrudescence of *O. volvulus* infection in the OCP area might be best detected by concentrating on a sentinel population of individuals born following implementation of successful control activities. We conducted an extensive evaluation of the DEC-patch test in children and adolescents. The results from these studies suggest that the DEC-patch test is a safe,

¹Deceased.

Address for correspondence: Thomas R. Unnasch, Division of Geographic Medicine, University of Alabama at Birmingham, BBRB 203, 1530 3rd Ave, South Birmingham, AL 35294-2170, USA; phone +1 205 975 7601, fax +1 205 933 5671, e-mail trunnasch@geomed.dom.uab.edu

inexpensive and minimally invasive means to detect recrudescence of *O. volvulus* infection in this sentinel population.

Materials and Methods

Study sites

Studies were carried out in 10 villages in Côte d'Ivoire and Burkina Faso. The Côte d'Ivoire study sites are located in the vicinity of the city of Soubre (062° 10' W, 054° 70' N). The villages included in the study were Galela, Gbletia, Gnamadji, Gnankoradji, Koperagui and Yaoude (Table 1). The Soubre area is located below the southern border of the OCP control area and is hyperendemic for *O. volvulus*. Based upon analysis of the O-150 repeat family, this area is endemic for the non-blinding strain of *O. volvulus* (TOË *et al.*, 1994). A total of 732 individuals from these 6 villages were included in the study.

Most of the study villages in Burkina Faso are located in the vicinity of the Bougouriba river basin (11 00' 00" W, 0 31' 40" N). Villages examined in the Bougouriba basin included Nakpi, Pintou and Kpoperi (Table 1). Studies were also conducted in the village of Fougou (11 31' 59" W, 0 40' 59" N). These villages are all within the OCP area. This area was formerly hyperendemic for onchocerciasis, but has been subject to successful vector control for the past 20 years. It is now generally hypoendemic for *O. volvulus* infection. Based upon analysis of parasites by the O-150 PCR assay, the area is endemic for the blinding strain of *O. volvulus* (TOË *et al.*, 1994). A total of 1155 individuals were enrolled from these 4 villages.

Experimental procedures

Studies were carried out under the supervision of staff of the OCP with the assistance of members of the National Onchocerciasis Control Programme teams from Côte d'Ivoire and Burkina Faso. All studies were conducted following the guidelines of the World Health Organization for experiments involving human subjects.

DEC solutions (10% or 20% w/v) were prepared by dissolving the necessary amount of DEC (Sigma Chemical Corporation, St Louis, MO, USA) in Nivea skin cream (Beiersdorf, Norwalk, CT, USA). The DEC solutions were kept on ice until needed. Patches were prepared by soaking a 1.5 cm × 1.5 cm square of filter paper (Whatman 3MM; Whatman International, Maidstone, UK) in the DEC solution. The filter-paper squares were applied to the iliac crest and held in place with adhesive tape. Two patches containing the DEC were placed on the right iliac crest, and 1 patch soaked in Nivea cream alone was placed on the left iliac crest. After 24 h, 1 of the DEC patches was removed and the extent of the reaction scored. The scoring system used was as follows: 0 = no reaction; 1 = 1–3 papules; 2 = 4–8

papules; 3 = >8 papules; and 4 = a confluent rash over the entire area covered by the patch. The same procedure was used to score the reaction at the second patch site after 48 h, at which time the reaction to the control Nivea patch was also scored. Following removal and scoring of the DEC-patch reaction, bilateral skin snips were collected from each individual, and the snips examined for the presence of microfilariae, following standard procedures (BRINKMANN, 1974). All eligible individuals were treated with ivermectin (Mectizan™; Merck Sharp & Dohme Ltd) following the collection of the samples, following the dosage protocols recommended by the Mectizan donation committee of the Task Force on Child Survival.

In the study comparing the PCR and DEC-patch assays, skin snips were preserved in a solution of 50 mM EDTA on ice, and DNA was extracted from the preserved tissue following previously published procedures (UNNASCH & MEREDITH, 1996). The DNA was used as a template in an O-150 PCR, as previously described (UNNASCH & MEREDITH, 1996). Positive PCR reactions were detected by hybridization with the *O. volvulus*-specific oligonucleotide OVS2, as previously described (TOË *et al.*, 1994).

The sensitivity, specificity and positive and negative predictive value of the DEC-patch assay were calculated by comparisons either to the skin snip or to the O-150 PCR as a 'gold standard', depending on the experiment. The formulae used in these calculations were as follows:

$$\text{Sensitivity} = \frac{DG^+}{G^+}$$

$$\text{Specificity} = \frac{DG^-}{G^-}$$

$$\text{Positive predictive value} = \frac{DG^+}{D^+}$$

$$\text{Negative predictive value} = \frac{DG^-}{D^-}$$

where DG^+ is the number of individuals positive in both the DEC-patch and gold-standard tests, DG^- is the number of individuals negative in both the DEC-patch and gold-standard tests, G^+ is the total number of individuals positive in the gold-standard test, G^- is the total number of individuals negative in the gold-standard test, D^+ is the total number of individuals positive in the DEC-patch test and D^- is the total number of individuals negative in the DEC-patch test.

Results

Initial studies were conducted employing a 10% DEC solution, and the extent of the reaction was evaluated at 24 and 48 h. As a control, the reaction to the carrier Nivea cream alone was evaluated at 48 h. None of the individuals tested ($n = 1887$) produced a discernable reaction in response to the carrier. In contrast, a variable proportion of the individuals tested produced a visible reaction in response to the DEC patch, consisting of a raised pustular rash at the site of application. The severity of the rash varied in intensity in different individuals. Following the observations taken at 48 h, skin snips obtained from each individual were examined for evidence of skin microfilariae, as described in Materials and Methods. The results of these studies are summarized in Table 2. The sensitivity of the DEC-patch assay ranged from 56% to 80% in these initial trials, while the specificity of the assay ranged from 80% to 95%. The sensitivity of the assay appeared to increase slightly when the results were observed at 48 h after applying the DEC patch, when compared to observations taken at 24 h (Table 2).

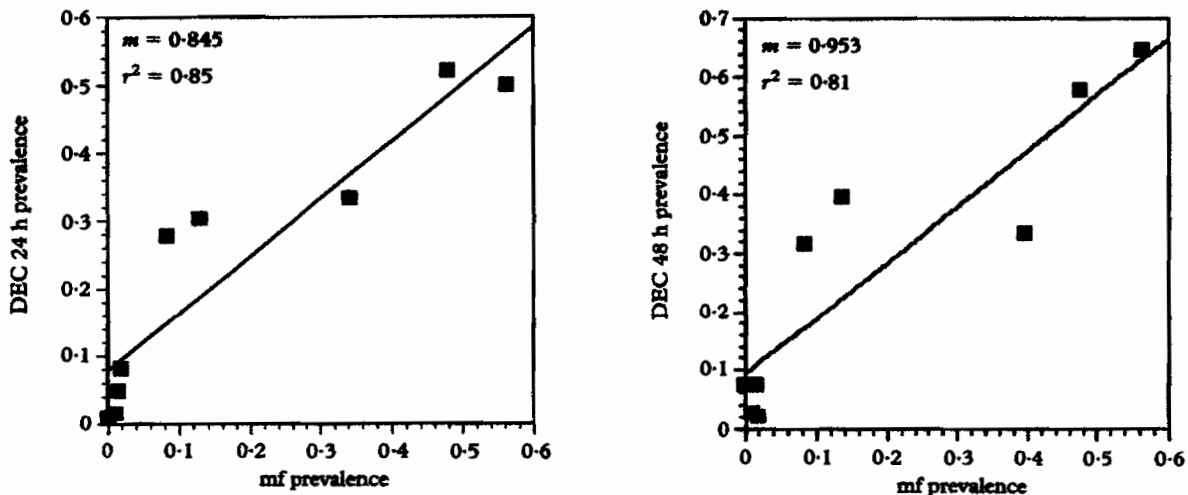
The infection prevalences as calculated from the skin-snip and DEC-patch assays were found to correlate closely (Fig. 1). The slope of the line correlating the prevalence as determined by skin snip to that determined

Table 1. Characteristics of the onchocerciasis study sites

Country/village	Number examined	Prevalence (skin snip)
Côte d'Ivoire		
Koperagui	48	56%
Gbletia	108	34%
Gnamadji	184	23%
Galela	138	14%
Gnankoradji	96	12%
Yaoude	158	2%
Burkina Faso		
Fougou	657	4%
Kpoperi	186	1%
Nakpi	202	1%
Pintou	110	0%

Table 2. Performance of the DEC-patch assay compared to the skin snip in children and adolescents

River basin/time	Sensitivity ^a	Specificity ^a	Positive predictive value ^a	Negative predictive value ^a
Sassandra				
24 h	74%	83%	50%	93%
48 h	80%	80%	51%	94%
Bougouriba				
24 h	56%	95%	43%	97%
48 h	64%	92%	36%	97%

^aAs defined in Materials and Methods. DEC, diethylcarbamazine.**Fig. 1.** Comparison of infection prevalences as estimated by diethylcarbamazine (DEC) patch and skin snip. Prevalences are given as the proportion of the population positive for a given test (e.g., 0.6 = 60% prevalence). Each point represents data collected from a single study site.

by the DEC-patch assay at 24 h was 0.85, while that of the line comparing the skin-snip prevalence to the DEC-patch assay at 48 h was 0.95. These results suggest that the DEC-patch assay produced estimates of infection prevalence that were close to those estimated by skin snip.

The intensity of the DEC-patch reaction was generally greater when observed at 48 h than at 24 h (Fig. 2). However, in some individuals exhibiting a severe reaction at 24 h the reaction decreased at 48 h (Fig. 2). Individuals with high skin microfilarial densities generally exhibited a DEC-patch reaction that was more severe than that seen in individuals with low levels of skin microfilariae, although the correlation of the intensity of the DEC-patch reaction and the level of skin microfilaria was not strong. In contrast, no relationship was seen between the age or sex of the individuals examined and the intensity of the reaction in response to DEC (data not given).

The results presented above suggested that the specificity of the DEC-patch assay was rather low when the skin snip was used as the gold standard. However, it has previously been shown that the standard skin-snip assay is relatively insensitive, especially in individuals with low microfilarial skin densities (TAYLOR *et al.*, 1987). More recent studies have suggested that PCR amplification of an *O. volvulus*-specific repeated DNA sequence (the O-150 repeat) from DNA prepared from skin snips is the most sensitive method for detecting *O. volvulus* infection in humans (ZIMMERMAN *et al.*, 1994). To determine whether the low specificity of the DEC-patch assay might be due to the insensitivity of the skin snip in detecting low-density infections, a study was carried out in the

village of Gnankoradgi, comparing the DEC-patch assay to the O-150 PCR. The results of this study are summarized in Table 3. The sensitivity of the DEC-patch assay was low when compared to the PCR assay, but the specificity of the assay increased, especially at the 24-h observation time, suggesting that the DEC-patch assay was capable of detecting some low-density infections that were missed by the skin-snip assay.

Some areas endemic for *O. volvulus* are co-endemic for *Mansonella perstans*, another filarial parasite of humans. It was possible that *M. perstans*-infected individuals might produce a positive result in the DEC-patch assay, compromising the use of the DEC-patch assay in areas where *O. volvulus* and *M. perstans* are sympatric. To determine whether this was the case, a pilot study was conducted in Zambia, a country endemic for *M. perstans* but not *O. volvulus*. A total of 700 individuals were assayed by blood test for evidence of *M. perstans* infection, of which 6 were found to be positive. The 6 *M. perstans*-infected individuals and 16 non-infected individuals from the same area were given the DEC-patch test. None of the *M. perstans*-positive or -negative individuals produced a positive reaction in the DEC-patch assay.

Mass distribution of Mectizan is currently the most common method of onchocerciasis control. To examine the effect of prior Mectizan treatment on the DEC-patch assay, a prospective study was carried out in the village of Gbletia. The village was first visited in February 1996 and the individuals were evaluated using both the DEC-patch and skin-snip assays. All eligible individuals in the village, including everyone enrolled in the study were treated with Mectizan. In January 1997, the village was re-visited and the study repeated. The overall prevalence

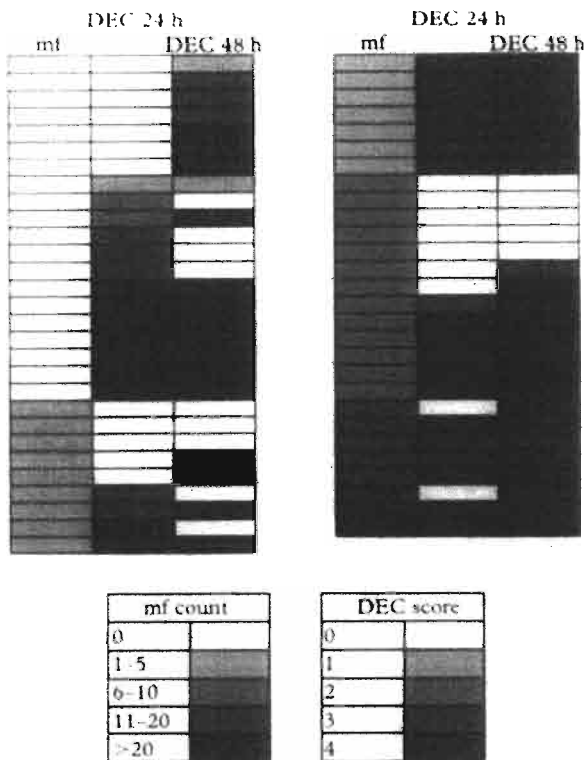


Fig. 2. Individual responses to the diethylcarbamazine (DEC)-patch test at 24 and 48 h. DEC-patch reactions and microfilarial counts were determined as described in Materials and Methods. Only individuals producing a positive result in at least 1 of the tests are shown. Individuals are ranked first according to their microfilarial count, second by their DEC-patch reaction at 24 h, and finally by their DEC reaction at 48 h.

of infection as judged by both assays had declined, from 34% to 8% based upon the skin-snip assay and from 45% to 36% based upon the DEC-patch assay. Compared to the skin-snip assay, the DEC-patch test exhibited a sensitivity of 78% and specificity of 72% prior to Mectizan treatment, and a sensitivity of 100% and specificity of 70% in the post-treatment population. In general, the intensity of the DEC-patch reaction in positive individuals also declined following Mectizan treatment (Fig. 3). A total of 18 individuals who produced DEC-positive reactions before Mectizan treatment became DEC-patch negative 1 year after treatment, while 8 individuals who had a negative patch test at the start of the study tested DEC-patch positive at the 1-year follow-up. One individual who tested skin-snip and DEC-patch negative tested strongly positive in both assays at the 1-year follow-up, suggesting that he or she had developed a patent infection in the period between February 1996 and January 1997. Similarly, a single individual testing DEC-patch positive and skin-snip negative in February 1996 was both skin-snip and DEC-patch positive in January 1997 (Fig. 3).

To determine whether increasing the concentration of the drug had any effect on the intensity or time of appearance of the reaction, a number of individuals were exposed to patches prepared with both 10% and 20% DEC. Reactions at the 10% and 20% application sites were evaluated at 24 and 48 h as described above. The results of this study are summarized in Table 4 and Figure 4. The assay employing the 20% patch exhibited a greater sensitivity than the 10% solution at both 24 and 48 h. The sensitivity of the 20% assay at 24 h was similar to that of the assay employing the 10% solution at 48 h (Table 4). Furthermore, the sensitivity of the assay

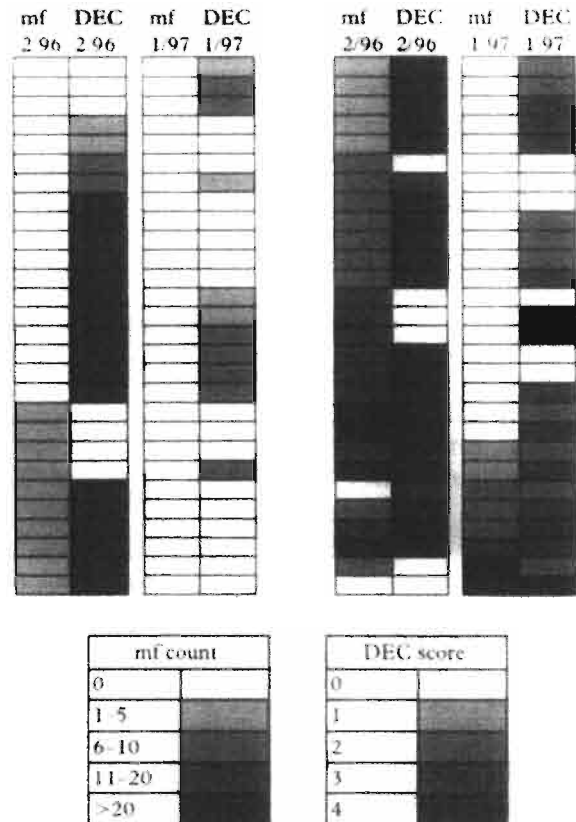


Fig. 3. Comparison of individual responses to the diethylcarbamazine (DEC)-patch test prior to and 11 months following ivermectin treatment. DEC-patch reactions and microfilarial counts were determined as described in Materials and Methods. Columns labelled 2/96 represent pre-treatment levels of infection and reaction, following which all individuals were treated with ivermectin as described in Materials and Methods. Columns labelled 1/97 represent data collected at the 11-month follow-up. Only individuals producing a positive result in at least 1 of the tests are shown. Individuals are arranged first by their microfilariae count at January 1997 (1/97), second by their microfilariae count at February 1996 (2/96), third by their DEC score at 2/96 and last by their DEC score at 1/97.

Table 3. Performance of the DEC-patch assay when compared to the O-150 PCR

Reading time	Sensitivity*	Specificity*
24 h	37%	100%
48 h	37%	71%

*As defined in Materials and Methods. DEC, diethylcarbamazine; PCR, polymerase chain reaction.

employing the 20% solution reached 100% at 48 h, when compared to the standard skin snip. Generally, the intensity of the reaction in each individual was greater in the skin exposed to the 20% DEC solution than in the skin exposed to the 10% solution, both at 24 and 48 h (Fig. 4).

As described above, epidemiological surveillance for infection recrudescence in the OCP area will concentrate on individuals born since the advent of effective control. However, it was possible that the sensitivity of the assay might be lower in children than in adults, who are generally more heavily infected and who have been exposed to the infection longer. A study was therefore undertaken to compare the sensitivity and specificity of

Table 4. Performance of DEC-patch assays employing 10% and 20% solutions compared to the skin snip

Concentration/ time	Sensitivity ^a	Specificity ^a	Positive predictive value ^a	Negative predictive value ^a
10%/24 h	44%	84%	33%	89%
20%/24 h	78%	74%	35%	95%
10%/48 h	89%	80%	44%	98%
20%/48 h	100%	64%	33%	100%

^aAs defined in Materials and Methods. DEC, diethylcarbamazine.

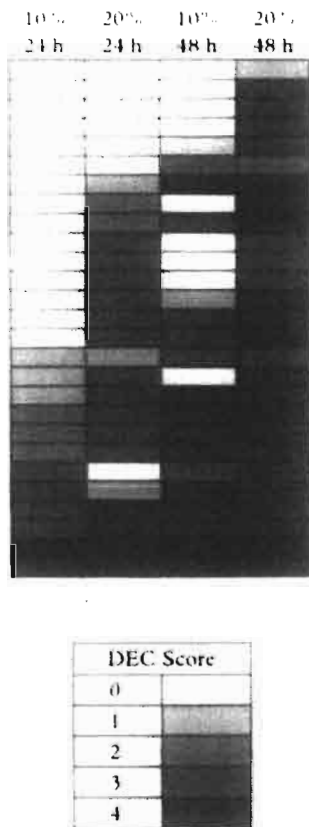


Fig. 4. Comparison of individual responses to the diethylcarbamazine (DEC)-patch test employing 10% and 20% solutions at 24 and 48 h. DEC-patch reactions were scored as described in Materials and Methods. Only individuals producing a positive result in at least 1 of the tests are shown. Individuals are ranked first according to the intensity of their reaction to the 10% DEC solution at 24 h, second by their reaction to the 20% DEC solution at 24 h, third by their reaction to the 10% solution at 48 h and finally by their reaction to the 20% solution at 48 h.

the 20% DEC-patch assay in children and adolescents to adults. The DEC-patch assay was found to be marginally more sensitive when administered to children and adolescents than when applied to adults (Table 5).

Discussion

As discussed above, children and adolescents born since the advent of successful control form a desirable sentinel population to detect recrudescence of infection in the OCP area. In the current study, we have evaluated the performance of the DEC-patch assay as a non-invasive and inexpensive means to detect *O. volvulus* infection in children and adolescents. As has been found in previous studies, when compared to the standard skin-snip assay, the DEC-patch test exhibited varying degrees of sensitivity and specificity. However, when compared to the O-150 PCR, the DEC-patch assay, while displaying a low level of sensitivity, exhibited an increased degree of specificity. The most likely explanation for these findings is that both the DEC-patch assay and the standard skin-snip assay are relatively insensitive when used to detect infections in individuals with low densities of skin microfilariae.

It was possible that the DEC-patch reaction would elicit a reaction in *M. perstans*-infected individuals, limiting the usefulness of the DEC-patch test for *O. volvulus* in areas co-endemic for *M. perstans*. The results presented above suggest that the DEC-patch reaction does not elicit a reaction in *M. perstans*-infected individuals. Furthermore, none of the individuals tested in Zambia, a country not endemic for *O. volvulus*, produced a reaction to the DEC solution. These results suggest that the specificity of the DEC-patch assay, when evaluated on individuals known to be free of *O. volvulus* infection, approaches 100%.

Two additional species of the genus *Mansonella*, *M. streptocerca* in Africa and *M. ozzardi* in Brazil, are found in areas endemic for *O. volvulus*. Microfilariae from *M. streptocerca* reside in the skin, while *M. ozzardi* microfilariae are found in the superficial vessels of the skin. It is thus possible that the DEC-patch test may produce a positive result in individuals infected with these parasites, reducing the utility of the DEC-patch test as a tool to identify *O. volvulus* infection in areas where *O. volvulus* and these parasites are sympatric. If this is the case, it may be possible to employ the DEC-patch test as an initial screening tool, and subsequently confirm the identity of the parasite in DEC patch-positive individuals using PCR assays specific for each parasite (FISCHER *et al.*, 1998; TOB *et al.*, 1998).

A good correlation was noted between the prevalence of infection as measured by the patch test and that measured by the skin snip, and the slope of the line comparing the prevalences as estimated by the 2 tests was nearly 1.0. This suggests that the overall estimate of

Table 5. Performance of the DEC-patch test compared to the skin snip as a function of age

Age-group (years)	Sensitivity ^a	Specificity ^a	Positive predictive value ^a	Negative predictive value ^a
<16	84%	49%	34%	91%
>16	70%	52%	52%	70%

^aAs defined in Materials and Methods. DEC, diethylcarbamazine.

infection prevalence as judged by the DEC-patch test is quite similar to that judged by the skin snip. The fact that the DEC-patch assay and the skin-snip assay produce comparable estimates of infection prevalence in the sentinel population suggests that data generated using the DEC-patch assay may be substituted for prevalence data generated by the skin-snip assay in the computer algorithms developed to simulate the dynamics of *O. volvulus* infection.

The data presented above suggest that the sensitivity of the DEC-patch assay could be increased by reading the results at 48 h rather than at 24 h and by employing a solution of 20% DEC versus 10% DEC. Maximal performance (a sensitivity of 100% and a negative predictive value of 100%) was obtained by employing a 20% DEC solution and reading the results at 48 h. However, a fairly high level of performance (comparable to that of the 10% assay when evaluated at 48 h) was seen in the assay employing the 20% DEC solution and reading the result after 24 h. For practical purposes, it may be acceptable to employ the 20% solution and to read the assay at 24 h. This will save the field teams 24 h in each village visited, therefore increasing the number of villages a team may survey in a given period of time.

In the prospective study comparing the responses of individuals to the DEC-patch test before and 11 months following treatment with Mectizan, the prevalence of infection as judged by both the DEC-patch assay and the skin snip decreased at the post-Mectizan time point, as expected. Interestingly however, the sensitivity of the DEC-patch assay appeared to increase in this same cohort when tested 11 months following Mectizan treatment. It is possible that this increase in sensitivity might be associated with a change in the immune state of the infected individuals following Mectizan treatment. Individuals infected with *O. volvulus* are often hyporesponsive to parasite antigens (GREENE *et al.*, 1985). However, when hyporesponsive individuals are treated with Mectizan, they become able to respond to parasite antigens (SOBOSLAY *et al.*, 1992, 1997; AKUFFO *et al.*, 1996). Because the host's cellular immune system is instrumental in the development of the rash elicited by the DEC patch in *O. volvulus*-infected individuals (PEARLMAN *et al.*, 1999), it may be predicted that the restoration of the ability of the host's immune system to recognize parasite antigen following Mectizan treatment might also increase the ability of an *O. volvulus*-infected individual to produce a positive reaction to the DEC patch. Further studies will be needed to determine whether this is indeed the case.

Several properties of the DEC-patch test make it a desirable tool for detecting recrudescence. The DEC-patch test does not require any expensive laboratory equipment, or transport of the collected samples to a central laboratory. Furthermore, the rash produced by the test is easily recognizable even to an untrained eye. The results of the test can thus be evaluated by individuals with minimal training. Finally, the test is inexpensive, costing roughly US\$0.12 per person examined, with the major expense associated with the test being the provision of the bandage to affix the test patch to the skin. The data presented above suggest that in the sentinel population to be followed by the OCP, the DEC-patch assay is at least as sensitive as the standard skin snip. For these reasons, the DEC-patch test may represent a non-invasive and inexpensive alternative to the skin snip for detecting recrudescence in the OCP area.

Acknowledgements

We thank the current and former directors of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa, Dr K. Y. Dadzie and Dr A. Sékétéli for their support and encouragement of this work. We also gratefully acknowledge the assistance of the Tropical Diseases Research Centre of Zambia. We thank Drs Naomi Lang-Unnasch and Daniel Boakye for critical reading of the manuscript. We dedicate this work to the memory of our friend

and colleague, Dr Noumouzan Dembélé, who died in January 2000.

References

- Akuffo, H., Maasho, K., Lavebratt, C., Engstrom, K. & Britton, S. (1996). Ivermectin-induced immunopotentiality in onchocerciasis: recognition of selected antigens following a single dose of ivermectin. *Clinical and Experimental Immunology*, 103, 244–252.
- Boatin, B., Molyneux, D. H., Hougard, J. M., Christensen, O. W., Alley, E. S., Yaméogo, L., Sékétéli, A. & Dadzie, K. Y. (1997). Patterns of epidemiology and control of onchocerciasis in West Africa. *Journal of Helminthology*, 71, 91–101.
- Bradley, J. E. & Unnasch, T. R. (1996). Molecular approaches to the diagnosis of onchocerciasis. In: *Advances in Parasitology*, Baker, J. R., Muller, R. & Rollinson, D. (editors). New York: Academic Press, pp. 57–106.
- Brinkman, U. K. (1974). The assessment of microfilarial densities in skin snips from onchocerciasis patients under field conditions. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 25, 160–166.
- Fischer, P., Buttner, D. W., Bamuhiga, J. & Williams, S. A. (1998). Detection of the filarial parasite *Mansonella streptocerca* in skin biopsies by a nested polymerase chain reaction-based assay. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 58, 816–820.
- Greene, B. M., Gbakima, A. A., Albiez, E. J. & Taylor, H. R. (1985). Humoral and cellular immune responses to *Onchocerca volvulus* infection in humans. *Reviews of Infectious Diseases*, 7, 789–795.
- Kilian, H. D. (1988). The use of a topical Mazzotti test in the diagnosis of onchocerciasis. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 39, 235–238.
- Lobos, E., Weiss, N., Karam, M., Taylor, H. R., Ottesen, E. A. & Nutman, T. B. (1991). An immunogenic *Onchocerca volvulus* antigen: a specific and early marker of infection. *Science*, 251, 1603–1605.
- Mazzotti, L. (1948). The feasibility of using the allergic reactions which follow the administration of hetrazan as an auxiliary means of diagnosis in onchocerciasis. *Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales, Mexico City*, 9, 235–237.
- Molyneux, D. H. & Davies, J. B. (1997). Onchocerciasis control: moving towards the millennium. *Parasitology Today*, 13, 418–424.
- Newland, H. S., Kaiser, A. & Taylor, H. R. (1987). The use of diethylcarbamazine cream in the diagnosis of onchocerciasis. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 38, 143–144.
- Ogunrinde, A. F., Chandrasekar, R., Weil, G. J. & Kale, O. O. (1992). Use of a recombinant antigen (OC 3.6 cDNA) for the serological diagnosis of onchocerciasis in exposed Nigerian children. *Journal of Tropical Pediatrics*, 38, 103–105.
- Pearlman, E., Toë, L., Boatin, B. A., Gilles, A. A., Higgins, A. W. & Unnasch, T. R. (1999). Eotaxin expression in *Onchocerca volvulus*-induced dermatitis after topical application of diethylcarbamazine. *Journal of Infectious Diseases*, 180, 1394–1397.
- Plaisier, A. P., van Oortmarssen, G. J., Remme, J. & Habbema, J. D. F. (1991). The reproductive lifespan of *Onchocerca volvulus* in West African savanna. *Acta Tropica*, 48, 271–284.
- Proust, A. & Prod'homme, J. (1978). Le diagnostic parasitologique de l'onchocercose, revue critique des méthodes en usage. *Médecine Tropicale*, 3, 519–532.
- Ramachandran, C. P. (1993). Improved immunodiagnostic tests to monitor onchocerciasis control programmes—a multicenter effort. *Parasitology Today*, 9, 76–79.
- Soboslay, P. T., Dreweck, C. M., Hoffmann, W. H., Luder, C. G., Heuschkel, C., Gorgen, H., Banla, M. & Schulz-Key, H. (1992). Ivermectin-facilitated immunity in onchocerciasis. Reversal of lymphocytopenia, cellular anergy and deficient cytokine production after single treatment. *Clinical and Experimental Immunology*, 89, 407–413.
- Soboslay, P. T., Geiger, S. M., Weiss, N., Banla, M., Luder, C. G., Dreweck, C. M., Batchassi, E., Boatin, B. A., Stadler, A. & Schulz-Key, H. (1997). The diverse expression of immunity in humans at distinct states of *Onchocerca volvulus* infection. *Immunology*, 90, 592–599.
- Stingl, P., Ross, M., Gibson, D. W., Ribas, J. & Connor, D. H. (1984). A diagnostic "patch test" for onchocerciasis using topical diethylcarbamazine. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 254–258.
- Taylor, H. R., Keyvan-Larijani, E., Newland, H. S., White, A. T. & Greene, B. M. (1987). Sensitivity of skin snips in the diagnosis of onchocerciasis. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 38, 145–147.

- Toë, L., Merriweather, A. & Unnasch, T. R. (1994). DNA probe based classification of *Simulium damnosum* s.l. borne and human derived filarial parasites in the Onchocerciasis Control Programme area. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 51, 676–683.
- Toë, L., Boatin, B. A., Adjami, A., Back, C., Merriweather, A. & Unnasch, T. R. (1998). Detection of *Onchocerca volvulus* infection by O-150 polymerase chain reaction analysis of skin scratches. *Journal of Infectious Diseases*, 178, 282–285.
- Unnasch, T. R. & Meredith, S. E. O. (1996). The use of degenerate primers in conjunction with strain and species oligonucleotides to classify *Onchocerca volvulus*. In: *Species Diagnostic Protocols: PCR and Other Nucleic Acid Methods*, Clapp, J. P. (editor). Totowa, NJ: Humana Press, pp. 293–303.
- WHO (1995). *Onchocerciasis and its Control*. Geneva: World Health Organization, Technical Report Series, no. 852.
- Zimmerman, P. A., Toë, L. & Unnasch, T. R. (1993). Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 58, 259–269.
- Zimmerman, P. A., Guderian, R. H., Aruajo, E., Elson, L., Phadke, P., Kubofcik, J. & Nutman, T. B. (1994). Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection: improved detection of patients with onchocerciasis. *Journal of Infectious Diseases*, 169, 686–689.

Received 14 February 2000; revised 6 March 2000; accepted for publication 31 March 2000

Announcements

ROYAL SOCIETY OF TROPICAL MEDICINE AND HYGIENE Joint meeting with the Egyptian Society of Hepatology Gastroenterology and Infectious Diseases

Alexandria, Cairo and Hugada, Egypt
5–6, 7–9, and 10–11 November 2000, respectively

For further information please contact Professor S. M. Kabil, Cairo GIT and Liver Center, 41 Talaat Harb Street, P.C. 11111, Central Cairo, Egypt; phone/fax +202 3915115 or +205 3929842, e-mail cggit@ritsec.com.eg

FIS 2000 Seventh Conference of the Federation of Infection Societies

Manchester, UK
29 November–1 December 2000

For further details contact FIS 2000, Conference Secretariat, Index Communications Meeting Services, Crown House, 28 Winchester Road, Romsey, Hampshire, SO51 8AA, UK; phone +44 (0)1794 511331, fax +44 (0)1794 511455, e-mail fis.icms@dial.pipex.com

American Society of Tropical Medicine and Hygiene 49th Annual Meeting

Houston, TX, USA
29 October–2 November 2000

For more information, please contact ASTMH Headquarters, 60 Revere Drive, Suite 500, Northbrook, IL 60062, USA; phone +1 847 480 9592, fax +1 847 480 9282, e-mail astmh@astmh.org, website www.astmh.org
The ASTMH 50th Annual General Meeting will be held in Atlanta, Georgia, USA, 11–15 November 2001.

TROISIEME PARTIE :
Changements bioclimatiques et onchocercose :
enjeux pour la surveillance

Présentation synthétique de l'article

1. Objectif :

Contribuer à une meilleure connaissance de l'épidémiologie de l'onchocercose dans la zone de transition forêt – savane en Côte d'Ivoire.

2. Matériels et méthodes

Matériels : le matériel biologique est constitué de vecteurs de l'onchocercose (espèces du complexe *Simulium damnosum s.l.*) et de parasites (filaires de stade infestant et microfilaires dermiques d'*Onchocerca volvulus*), collectés à l'occasion des activités de surveillance entomologique et épidémiologique de l'OCP dans le bassin fluvial du Bandama en Côte d'Ivoire, pendant la période 1992-1998.

Méthodes : les proportions relatives des groupes d'espèces de *S. damnosum s.l.* (vecteurs de forêt ou de savane) ainsi que les proportions des souches d'*O. volvulus* (souche de forêt ou de savane) chez l'homme et le vecteur, ont été déterminées dans deux foyers d'onchocercose : le foyer du haut Bandama situé en zone de savane guinéenne, et celui du moyen Bandama situé en zone de forêt dégradée. L'identification des groupes d'espèces de vecteurs a été réalisée par des critères morphologiques, tandis que les parasites ont été identifiés par des techniques de biologie moléculaire faisant appel à la PCR et aux sondes d'ADN.

3. Résultats

Les résultats d'identification des espèces de *S. damnosum s.l.*, indiquent que les espèces savaniques sont majoritairement présentes dans les deux zones d'étude. Dans le foyer du haut Bandama, les simules du groupe de savane représentent 96% et 99% de l'ensemble des simules capturées, respectivement en saison humide et en saison sèche. Dans le foyer du moyen Bandama, elles représentent 89% et 94% des simules capturées en saison humide et en saison sèche. Toutes ces proportions ne sont pas significativement différentes.

Les résultats de l'identification des souches d'*O. volvulus* indiquent que le réservoir de parasite dans le foyer du haut Bandama est homogène. Dans ce foyer où l'onchocercose est cécitante, « *O. volvulus* savane » représente 100% des souches identifiées chez l'homme et 99% des souches du parasite trouvées chez le vecteur. Dans le foyer du moyen Bandama le réservoir

de parasite apparaît plus hétérogène. Dans ce foyer où le profil épidémiologique de l'onchocercose était naguère de type forêt, « *O. volvulus* forêt » représente 67% des microfilaires dermiques collectées chez les personnes infectées, 33% et 19% des larves infectantes présentes respectivement chez les vecteurs de forêt et de savane.

4. Conclusions

Les pourcentages élevés des vecteurs et parasites de savane dans le foyer du mayen Bandama, indiquent probablement un phénomène de « savanisation » de l'onchocercose. Ce phénomène constitue un risque d'extension de l'onchocercose cécitante dans ce foyer.

Article 5 :

Parasitology (2004) 128 (4) : p 407-414.

**The current status of onchocerciasis in the forest/savanna
transition zone of Cote d'Ivoire**

Adjami AG, Toe L, Bissan Y, Bugri S, Yameogo L, Kone M, Katholi CR, Unnasch TR.

The current status of onchocerciasis in the forest/savanna transition zone of Côte d'Ivoire

A. G. ADJAMI¹, L. TOÉ¹, Y. BISSAN¹, S. BUGRI¹, L. YAMÉOGO², M. KONE³,
C. R. KATHOLI⁴ and T. R. UNNASCH^{5*}

¹ Multi Disease Surveillance Centre, World Health Organization, B.P. 549, Ouagadougou, Burkina Faso

² African Programme for Onchocerciasis Control, World Health Organization, B.P. 549, Ouagadougou, Burkina Faso

³ Centre Pierre Richet, B.P. 1500, Bouake 01, Côte d'Ivoire

⁴ Department of Biostatistics and ⁵ Division of Geographic Medicine, University of Alabama at Birmingham, 1530 3rd Avenue South, Birmingham AL 35294, USA

(Received 11 September 2003; revised 15 October 2003; accepted 15 October 2003)

SUMMARY

Onchocerca volvulus exists in at least two strains in West Africa, while its black-fly vectors consist of sibling species, dwelling in the savanna and forest/transition zones. In transition and degraded forest zones both parasite strains and different sibling species of the vector can be sympatric. The strain of parasite in infected humans and in vector black-flies was determined in two bioclims along the Bandama river of Côte d'Ivoire. The upper Bandama is located in the savanna bioclimate while the Middle Bandama is located in a degraded forest zone. At both sites, savanna-dwelling sibling species of the *Simulium damnosum sensu lato* species complex predominated. The severe-strain of *O. volvulus* was the predominant strain at both sites. However, severe-strain parasites represented a significantly larger proportion of those found in the vector population than in the human population in the degraded forest of the Middle Bandama. These data suggest that in degraded forest areas recently invaded by savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* transmission of the severe-strain of the parasite might be more efficient than transmission of the mild-strain.

Key words: *Onchocerca volvulus*, *Simulium damnosum*, strain, West Africa, river blindness.

INTRODUCTION

Two distinct strains of *Onchocerca volvulus* are known to exist in West Africa. The forest or 'mild' strain is endemic to the rain-forested bioclimate of West Africa while the savanna or 'severe' strain is endemic in the savanna bioclimate. Epidemiological and experimental studies have suggested that the severe-strain is more capable of inducing ocular disease (especially in the anterior chamber of the eye) than the mild-strain (Duke, 1981; Dadzie *et al.* 1989; Remme *et al.* 1989). Previous studies have demonstrated that the two strains of *O. volvulus* can be distinguished on the basis of hybridization with strain-specific DNA probes (Erttmann *et al.* 1987; Erttmann *et al.* 1990), and that the results from molecular identification correlate with those obtained by ophthalmological and epidemiological methods (Zimmerman *et al.* 1992).

O. volvulus in West Africa is transmitted by members of the *Simulium damnosum sensu lato* species complex. The six sibling species of *S. damnosum s.l.* inhabit different bioclims. Two sibling species (*S. sirbanum* and *S. damnosum sensu stricto*) are found

in savanna habitats, while four species (*S. yahense*, *S. squamosum*, *S. sanctipauli* and *S. soubrense*) are primarily forest/transition-zone dwellers. Analyses of populations where savanna and forest/transition zone-dwelling species of *S. damnosum s.l.* are sympatric have demonstrated that the savanna and forest/transition-zone-dwelling black-fly species are equally capable of transmitting both parasite strains (Toé *et al.* 1997b). However, experimental studies have suggested that the savanna-dwelling species more efficiently support the development of the severe-strain than the mild-strain *O. volvulus* (Duke, Lewis & Moore, 1966). Conversely, the forest-dwelling sibling species of *S. damnosum s.l.* more efficiently support the development of mild-strain parasites (Duke *et al.* 1966).

Over the past 30 years, the natural ecology of *O. volvulus* has been altered by human activity, drought and desertification. The Onchocerciasis Control Programme in West Africa (OCP) was a large-scale internationally supported programme that was active from 1975–2002. The OCP succeeded in eliminating onchocerciasis as a public health problem in onchocerciasis endemic areas of 10 of the 11 countries in West Africa where the programme was active (Hougard *et al.* 2001; Etya'ale, 2002). The sole exception to this success was Sierra Leone, where political instability interfered with the programme's activities in the 1990s. Vector control was the key

* Corresponding author: University of Alabama at Birmingham, Division of Geographic Medicine, BBRB 203, 1530 3rd Avenue South, Birmingham, AL 35294-2170, USA. Tel: +1 205 975 7601. Fax: +1 205 934 5600. E-mail: trunnasch@geomed.dom.uab.edu

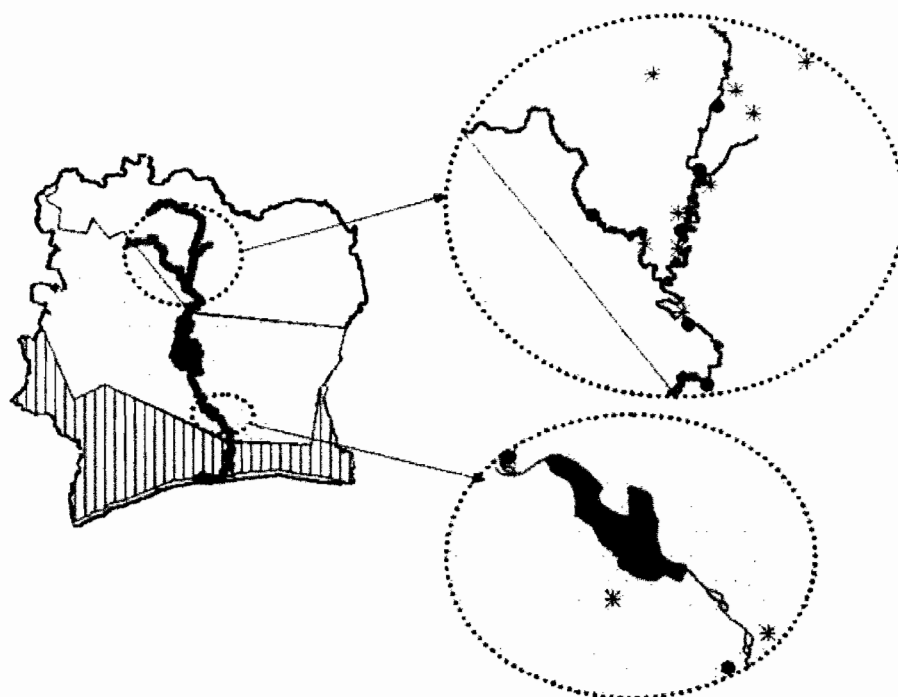


Fig. 1. Location of collection sites. The clear zone on the map indicates the area of the Upper Bandama (savanna bioclimate), the grey zone the area of the Lower Bandama (degraded forest bioclimate) and the hatched zone the area of the coastal Bandama. Asterisks indicate the approximate location of the villages from which microfilariae were collected and circles indicate the approximate location of sites from which infected blackflies were collected.

intervention employed by OCP until the micro-filaricide ivermectin (Mectizan®) became available in the early 1990s as a donation from Merck, Sharpe and Dohme. Since that time Mectizan® was used by OCP as a control measure, either alone or in conjunction with vector control (Boatin *et al.* 1997). OCP's intensive vector control activities reduced the populations of the savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* and eliminated transmission in large parts of West Africa (Philippon *et al.* 1990; Bissan *et al.* 1995). Conversely, the destruction of the rain-forests of West Africa has resulted in the displacement of forest/transition-zone-dwelling species of *S. damnosum s.l.* by savanna-dwelling species (Walsh, Molyneux & Birley, 1993; Wilson *et al.* 2002). However, little is known concerning the effect that these factors have had upon the traditional relationship of the vector and parasite in West Africa. In the current study, we report the results of a study examining the vector and parasite populations at two sites along the Bandama River in Côte d'Ivoire. One of these sites is located in the savanna bioclimate, while the second is in an area of degraded forest.

MATERIALS AND METHODS

Study sites and sample collection

Study sites were located along the Bandama River in Côte d'Ivoire (Fig. 1). The Upper Bandama site is

located in the savanna within the original area of the OCP. Vector control activities in the Upper Bandama area began in February 1975. Before the beginning of the operations, this focus was hyperendemic for onchocerciasis, with an estimated prevalence of infection greater than 60% (Boatin *et al.* 1997). The high intensity of transmission in this area had resulted in the desertion of this part of the Bandama valley by the local human population (Philippon, 1976). Periodic data collected by the OCP's entomological and epidemiological units demonstrated that the OCP's vector control activities had dramatically reduced both the intensity of transmission and the development of new infections in the human population (DeSole, Remme & Dadzie, 1990; Philippon *et al.* 1990).

The middle Bandama site is located in an area that originally was within the rain-forest bioclimate of Côte d'Ivoire. However, as a result of human activity, annual fluctuations in rainfall and desertification over the past two decades, this area has been converted to wooded savanna. The Middle Bandama is within the Southern Extension Zone of the OCP and vector control activities began in this area in 1979. Similar to the Upper Bandama, the Middle Bandama was hyperendemic for onchocerciasis, with an infection prevalence greater than 60% (Philippon & Sékétéli, 1998). However, this area exhibited a mild form of the disease in which onchocercal ocular disease was rare (Philippon *et al.* 1998).

Skin microfilariae from the villages in the Upper and Middle Bandama were obtained from individuals residing in this area as part of routine epidemiological monitoring activities carried out by the OCP. Villagers were informed as to the purpose of the skin snipping by the OCP field teams and consented to the procedure. Microfilariae were preserved dried on microscope slides as previously described (Toé *et al.* 1997a). Infective larvae were collected from flies collected by the OCP during the period 1992–1998 as part of its entomological monitoring activities. Blackflies were collected by the OCP's field teams following standard procedures (Davies *et al.* 1981), and kept alive in individual tubes for later identification and dissection.

Identification of vectors

Adult blackflies were identified by morphological criteria, as previously described (Wilson, Post & Gomulski, 1993). This technique is based on the analysis of morphological characters including the colour of the procoxa and the antenna, the colour of the arculus and the wing tuft silks, the colour of the scutellum silks and the colour of the ninth abdominal tergite silks. Morphological methods allowed the separation of adult blackflies into savanna-dwelling species (*S. damnosum* s.s. and *S. sirbanum*) and forest/transition-zone-dwelling species (*S. sanctipauli*, *S. leonense*, *S. squamosum* and *S. yahense*).

Parasite identification

Parasites were identified to the strain level, as previously described (Unnasch & Meredith, 1996). In brief, DNA was extracted from individual microfilariae or infective larvae by adsorption to a silica slurry. The resulting DNA was then used as a template in a PCR targeting a tandemly repeated DNA sequence specific to parasites of the genus *Onchocerca* (Zimmerman, Toé & Unnasch, 1993). The sequence of the primers used in the PCR were GATTYT-TCCGRCGAAXARCGC and CXRTTAAAT-XTGXAAATTC, where R=A or G, Y=C or T and X=A, G, C or T. Amplifications were carried out in a volume of 50 µl in a solution containing 60 mM Tris-HCl (pH 9.0), 15 mM (NH₄)₂SO₄, 2 mM MgCl₂, 0.2 mM each dATP, dCTP, dGTP and dTTP, 0.5 µM of each primer, 2.5 units of Taq polymerase (Roche Diagnostics) and 2.5 µl of template DNA. Cycling conditions consisted of 30 repeats of 94 °C for 30 sec, 37 °C for 1 min, and 72 °C for 30 sec. Amplification products were separated by electrophoresis in a 2% agarose gel, and the gel was used to prepare a Southern blot, following standard procedures. The amplification products were then characterized on the basis of hybridization to species- and strain-specific oligonucleotide probes, as previously described (Toé, Merriweather & Unnasch,

1994). In brief, PCR products hybridizing to the *O. volvulus*-specific oligonucleotide probe OVS-2 were classified as *O. volvulus*, while those that did not hybridize to OVS-2 were classified as having been derived from other *Onchocerca* species (in this area, primarily *O. ochengi*). Samples hybridizing to OVS-2 were further classified on the basis of their hybridization pattern to the strain-specific probe pFS-1 (Erttmann *et al.* 1987). Samples hybridizing to pFS-1 were classified as belonging to the mild-strain of *O. volvulus*, while those that did not hybridize to pFS-1 were classified as belonging to the severe-strain (Zimmerman *et al.* 1992).

RESULTS

The proportions of forest/transition-zone and savanna-dwelling species of *S. damnosum* s.l. collected at the Upper and Middle Bandama sites during the period 1992–1998 are shown in Fig. 2. Essentially all of the flies collected at the Upper Bandama focus in both the rainy and dry seasons were savanna-dwelling species, in keeping with the savanna bioclimate in the area. In contrast, while the majority of flies collected at the Middle Bandama collection points were also savanna-dwelling species, more than 10% of the flies collected during the rainy season were classified as forest/transition-zone-dwelling species (Fig. 2). The species composition of the infected flies collected at the two collection points was not significantly different from that seen in the total population (data not shown).

DNA isolated from microfilariae collected from infected humans residing in the Middle and Upper Bandama foci, and from infective larvae dissected from flies, were used as templates in the *Onchocerca* specific O-150 PCR. All of the microfilarial samples tested produced amplification products in the O-150 PCR, as did 195/203 (96%) of the infective larvae. The resulting PCR amplification products were then classified on the basis of hybridization to the *O. volvulus* species-specific oligonucleotide probe OVS-2 as described in the Materials and Methods section. As expected, all of the microfilariae derived from infected humans hybridized to OVS-2, in keeping with previous studies suggesting that this probe was 100% sensitive for the detection of *O. volvulus* (Toé *et al.* 1994). In contrast, 69% of the infective larvae isolated from flies collected from the Upper Bandama were classified as *O. volvulus*, as compared with 89% of the larvae from the Middle Bandama (Fig. 3).

The *O. volvulus* microfilariae and infective larvae were then classified as belonging to the severe or mild-strain on the basis of hybridization to the mild-strain specific probe pFS-1, as described in the Materials and Methods section. All of the microfilariae and 99% of the L3 collected from the Upper Bandama were classified as belonging to the

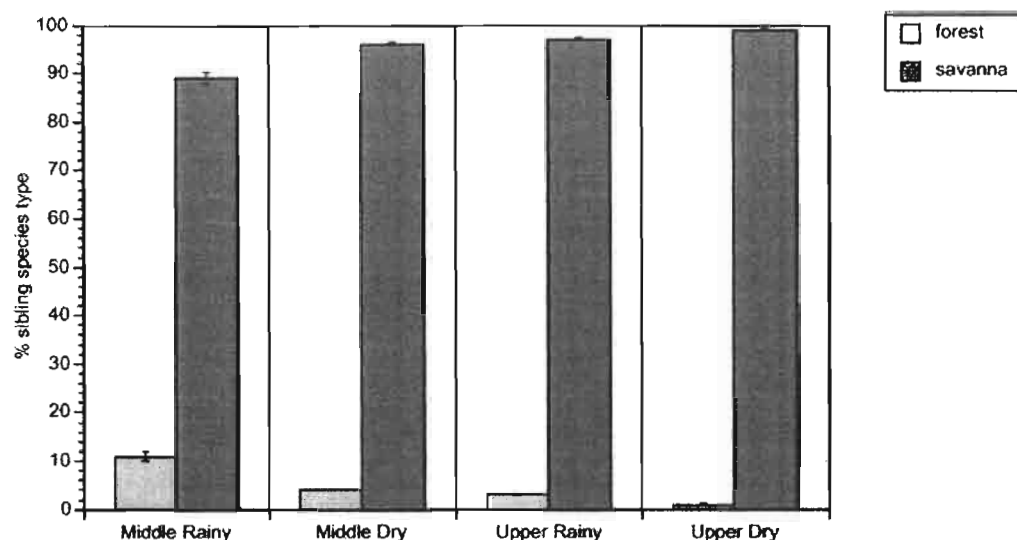


Fig. 2. Composition of blackfly collections obtained from the Upper and Middle Bandama during 1992–1998. Flies were classified using morphometric keys into savanna- and forest/transition-zone-dwelling sibling species as described in the Materials and Methods section. Error bars indicate 95% confidence intervals for the proportions shown. A total of 56 222 flies were collected.

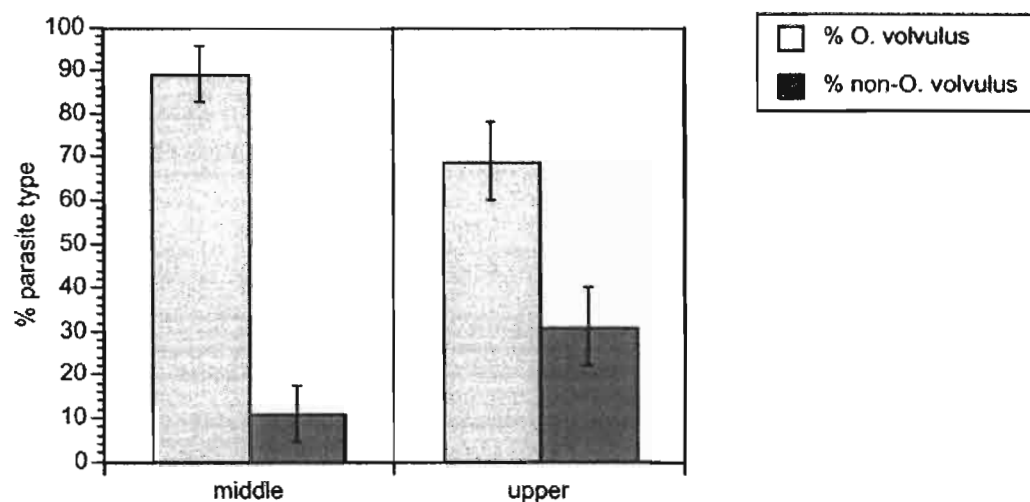


Fig. 3. Proportion of parasites classified as *Onchocerca volvulus* or non-*O. volvulus* from infected flies collected from the Upper and Middle Bandama. Infective larvae isolated from flies were classified by O-150 PCR followed by hybridization to the *O. volvulus*-specific oligonucleotide OVS2 as described in the Materials and Methods section. Error bars indicate 95% confidence intervals for the proportions shown. Larvae from a total of 194 infected flies were classified.

severe-strain (Fig. 4). In contrast, larger proportions of mild-strain parasites were seen in the Middle Bandama. A total of 33% of the infective larvae found in the forest/transition-zone-dwelling species of *S. damnosum s.l.* were classified as belonging to the mild-strain, while 19% of the infective larvae in the savanna-dwelling blackfly sibling species were classified as belonging to the mild-strain (Fig. 5). This difference was not significant ($P=0.226$; Fisher's exact test). However, 67% of the microfilariae collected from infected humans at the Middle Bandama were classified as belonging to the mild-strain of the parasite (Fig. 5). This was significantly higher than

the proportion of mild-strain infective larvae (21%) found in the infected flies collected at this site ($P<0.0001$; Fisher's exact test).

DISCUSSION

The data presented above suggest that the savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* predominate in both the Upper and Middle Bandama regions. This was expected in the Upper Bandama, as this area has always been a savanna habitat. However, the predominance of the savanna-dwelling species at the middle Bandama is a recent phenomenon. In

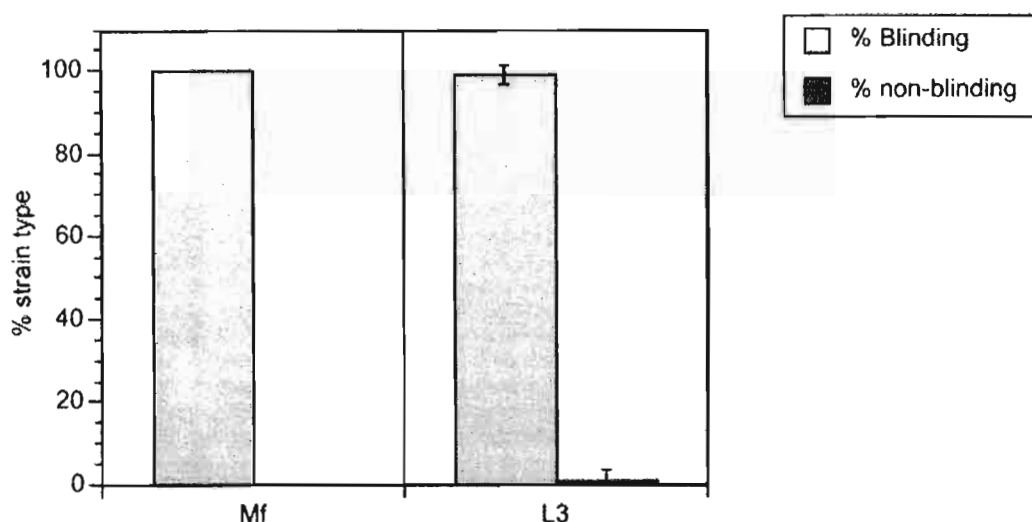


Fig. 4. Strain identification of parasites collected from the Upper Bandama. Parasites were classified as belonging to the severe or mild-strain by O-150 PCR, followed by hybridization with the mild-strain specific probe pFS-1, as described in the Materials and Methods section. Error bars indicate 95% confidence intervals surrounding the proportions indicated in the graph. Microfilariae from 84 infected humans and L3 from 72 infected flies were classified.

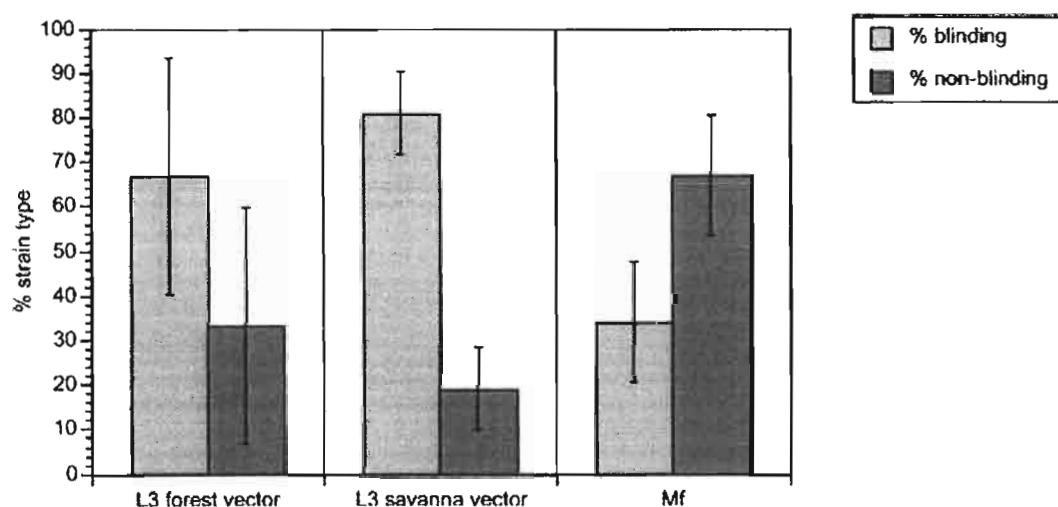


Fig. 5. Strain identification of parasites collected from the Middle Bandama. Parasites were classified as belonging to the severe or mild-strain by O-150 PCR, followed by hybridization with the mild-strain specific probe pFS-1, as described in the Materials and Methods section. Error bars indicate 95% confidence intervals surrounding the proportions indicated in the graph. Microfilariae from 48 infected humans and L3 from 80 infected flies were classified.

studies conducted by the OCP in 1982, forest/transition-zone species of *S. damnosum s.l.* accounted for 94% of the *S. damnosum s.l.* collected at this site. This proportion has decreased over the past two decades, with parallel increase in the proportion of savanna-dwelling vectors. According to OCP records, the savanna-dwelling species became the majority species in the 1988–1990 time-period (OCP, unpublished data). From studies of data collected in Ghana, a similar replacement of forest-dwelling species of *S. damnosum s.l.* with savanna-dwelling species was reported (Walsh *et al.* 1993). This process was correlated with a decrease in the amount of rainforest cover and an increase in savanna grassland

and urban areas in Ghana over the past 20 years (Wilson *et al.* 2002). The data presented here support the conclusion of the previous report, which suggested that one result of deforestation was the replacement of rain-forest-dwelling species of *S. damnosum s.l.* with savanna-dwelling species.

All of the microfilariae examined in this study produced PCR amplification products, and all of the microfilarial PCR products hybridized to the *O. volvulus* specific oligonucleotide OVS-2. This was in agreement with previous studies that have suggested that this probe is 100% sensitive for the detection of *O. volvulus* (Toé *et al.* 1994). However, only 89% of the infective larvae collected from the Middle

Bandama and 69% of the larvae from the Upper Bandama which were positive in the PCR assay produced PCR products recognized by OVS-2. It is known that several different species of *Onchocerca* are endemic to West Africa, including *O. ochengi*, *O. armillata*, *O. raillieti* and *O. dukei* (Omar & Garms, 1981; Garms, 1985; Philippon *et al.* 1990). These are parasites of ungulates and do not infect humans. The vector for many of these parasites is not known (Séchan, 1984), but *O. ochengi* is transmitted by the same sibling species of *S. damnosum s.l.* that serve as vectors for *O. volvulus* (McCall, Townson & Trees, 1992). It is therefore likely that those larvae that produced PCR products which did not hybridize to OVS-2 were *O. ochengi* or one of the other ungulate parasites of the genus *Onchocerca* endemic to this region. In this regard, it is interesting to note that *O. ochengi* is a parasite of domestic cattle and cattle are more prevalent in the savanna of the Upper Bandama than in the degraded forest of the Middle Bandama. The higher concentration of cattle in the Upper Bandama would be expected to bring about an increased density of *O. ochengi*-infected animals in this region, and a corresponding increase in the proportion of flies infected with *O. ochengi*.

In a series of classical studies, Duke and co-workers demonstrated that the vector competence of the savanna- and forest-dwelling sibling species of *S. damnosum s.l.* was dramatically different for the two strains of *O. volvulus* (Duke *et al.* 1966). This finding led to the development of the transmission complex hypothesis, which suggested that savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* were efficient vectors for only the severe-strain of *O. volvulus*, while the forest/transition-zone-dwelling species were efficient vectors of the mild-strain of the parasite. More recently, studies examining the prevalence of infection of sympatric populations of forest/transition-zone and savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* with severe and mild-strain parasites revealed no significant differences in infection rates with the severe and mild strains of the parasite among the different sibling species (Toé *et al.* 1997b). This finding suggested that transmission complexes were not playing an important role in the biology of *O. volvulus* transmission and that the forest/transition-zone- and savanna-dwelling species were capable of transmitting both parasite strains with equal efficiency under natural conditions. The data presented above support this finding, as the proportion of forest/transition-zone- and savanna-dwelling blackflies carrying larvae of the two strains were not significantly different.

As mentioned above, the mild-strain of *O. volvulus* has historically been endemic to the rain-forest habitats of West Africa, where the vectors have historically been the forest/transition-zone-dwelling species of *S. damnosum s.l.* The climatic and anthropogenic changes that have resulted in the massive

deforestation of much of the rain forests of West Africa have apparently also resulted in the replacement of the forest species of *S. damnosum s.l.* with savanna-dwelling species in many areas. This has the effect of replacing the historical vectors of the mild-strain of *O. volvulus* with a new vector species. In this regard, it is interesting to note that the prevalence of severe-strain-infective larvae in vector black-flies collected in the Middle Bandama region was significantly greater than the prevalence of severe-strain microfilariae collected from the human population residing in this area ($P < 0.0001$; Fisher's exact test). There are at least three possible explanations for this finding. First, it is possible that the mild-strain parasites in this region represent the descendants of the parasite population that has historically existed in this area, while the savanna parasites may have been introduced to this area by the invading savanna-dwelling species of *S. damnosum s.l.* If this is the case, it could be hypothesized that the population of severe-strain parasites was on the whole younger and therefore more fertile than the population of mild-strain parasites, making them more infectious to the vector population. Alternatively, it is possible that the high proportion of severe-strain parasites in the vectors may reflect a difference in the degree of host-vector contact in the populations of individuals infected with the two strains, with those infected with the severe-strain having more contact with the vector population. Finally, it is possible that the differences in vector competence noted by Duke and co-workers are an adaptive phenomenon. In this case, one might predict that while both strains of the parasite are capable of being transmitted by the different vector sibling species, when a new vector species is introduced into an area, it might transmit the homologous strain of the parasite more efficiently than the heterologous strain. However, this hypothesis would predict that while the severe-strain larvae would be over-represented in the savanna-dwelling vectors that have invaded the area over the past 20 years, they would not be over-represented in the forest/transition-zone-dwelling vectors that historically have been the vector species endemic to the area. In fact, when the infected forest/transition-zone-dwelling vectors were analysed alone, severe-strain larvae were still significantly over-represented based upon what would be predicted from their prevalence in the human population ($P = 0.035$; Fisher's Exact test). This analysis therefore supports the hypothesis that the over-representation of the severe-strain larvae in the vectors is more likely to be some property of the parasite population itself and not due to the interaction of the vector and parasite populations.

Because methods to distinguish the different strains of *O. volvulus* were developed over the past 10 years, they were not available to classify the parasite population present in the Middle Bandama before

the deforestation of this area. However, previous studies have demonstrated an almost perfect correspondence of epidemiological disease classification and strain classification using the strain-specific probe pFS-1 (Zimmerman *et al.* 1992). Epidemiologically, the Middle Bandama exhibited a mild disease pattern at the start of the OCP, and therefore it is likely that mild-strain parasites were endemic to this location before the area became deforested. If this was the case, the data presented here demonstrate that deforestation may result in the introduction of severe onchocerciasis into an area, and that once introduced, the severe-strain may be efficiently transmitted, perhaps eventually resulting in the replacement of the mild-strain of *O. volvulus* with the severe-strain. If so, the spread of severe onchocerciasis into deforested areas may be one consequence of the anthropogenic and climatic changes that have occurred in West Africa over the past two decades.

The data presented above suggest that replacement of the forest vector by savanna vectors in the middle Bandama may have led to an expansion of the savanna-strain of *O. volvulus* in this area, increasing the risk of severe onchocerciasis. Several measures were taken by the OCP to reduce this threat. These included efforts to assist in national capacity building and decision making, and implementation of an entomological surveillance system based upon screening vector populations for determination of the infectivity rate (Yaméogo *et al.* 1999). Furthermore, bi-annual Mectizan[®] distribution is currently underway in the Middle Bandama. The results presented here suggest that it is likely that Mectizan[®] distribution through community directed treatment will be required to maintain the successes of the OCP in this area. It is hoped that such large-scale Mectizan[®] distribution in Bandama basin may be maintained through the participation of the Ministry of Health and non-governmental donor agencies, potentially in conjunction with any emerging Programme for the Elimination of Lymphatic Filariasis.

We would like to thank the Onchocerciasis Control Programme in West Africa (OCP) for providing us with financial support and access to unpublished data. We are grateful to Dr B. A. Boatın for his continued support, which has made this publication possible. We also thank Drs Tarig Higazi and Naomi Lang-Unnasch for critically reviewing the manuscript.

REFERENCES

- BISSAN, Y., HOUGARD, J. M., DOUCOURE, K., AKPOBOUA, A., BACK, C., POUDIOUGO, P., SIB, A. P., COULIBALY, Y., GUILLET, P. & SESAY, I. (1995). Drastic reduction of populations of *Simulium sirbanum* (Diptera: Simuliidae) in central Sierra Leone after 5 years of larviciding operations by the Onchocerciasis Control Programme. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **89**, 63–72.
- BOATIN, B., MOLYNEUX, D. H., HOUGARD, J. M., CHRISTENSEN, O. W., ALLEY, E. S., YAMEOGO, L., SEKETELI, A. & DADZIE, K. Y. (1997). Patterns of epidemiology and control of onchocerciasis in West Africa. *Journal of Helminthology* **71**, 91–101.
- DADZIE, K. Y., REMME, J., ROLLAND, A. & THYLEFORS, B. (1989). Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. II. West African rainforest foci of the vector *Simulium yahense*. *Tropical Medicine and Parasitology* **40**, 348–354.
- DAVIES, J. B., SEKETELI, A., WALSH, J. F., BARRO, T. & SAWADOGO, R. (1981). Studies on biting *Simulium damnosum* s.l. at a breeding site in the Onchocerciasis Control Programme area during and after an interruption of insecticidal treatments. *Tropical Medicine and Parasitology* **32**, 17–24.
- DESOLE, G., REMME, J. & DADZIE, K. Y. (1990). Epidemiological impact of vector control. I. Incidence and changes in prevalence and intensity of *Onchocerca volvulus* infection. *Acta Leidensia* **59**, 119–126.
- DUKE, B. O. L., LEWIS, D. J. & MOORE, P. J. (1966). *Onchocerca-Simulium* complexes. I. Transmission of forest and Sudan-savannah strains of *Onchocerca volvulus*, from Cameroon, by *Simulium damnosum* from various West African bioclimatic zones. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **60**, 318–336.
- DUKE, B. O. L. (1981). Geographical aspects of onchocerciasis. *Annales of the Belgian Society of Tropical Medicine* **61**, 179–186.
- ERTTMANN, K. D., UNNASCH, T. R., GREENE, B. M., ALBIEZ, E. J., BOATENG, J., DENKE, A. M., FERRARONI, J. J., KARAM, M., SCHULZ-KEY, H. & WILLIAMS, P. N. (1987). A DNA sequence specific for forest form *Onchocerca volvulus*. *Nature, London* **327**, 415–417.
- ERTTMANN, K. D., MEREDITH, S. E. O., GREENE, B. M. & UNNASCH, T. R. (1990). Isolation and characterization of form specific DNA sequences of *Onchocerca volvulus*. *Acta Leidensia* **59**, 253–260.
- ETYA'ALE, D. (2002). Eliminating onchocerciasis as a public health problem: The beginning of the end. *British Journal of Ophthalmology* **86**, 844–846.
- GARMS, R. (1985). Morphological differentiation from *Onchocerca volvulus* of first stage larvae of an unknown filarial species commonly found in *Simulium sanctipauli* s.l. in Liberia. *Tropical Medicine and Parasitology* **36**, 255–256.
- HOUGARD, J. M., ALLEY, E. S., YAMEOGO, L., DADZIE, K. Y. & BOATIN, B. A. (2001). Eliminating onchocerciasis after 14 years of vector control: A proved strategy. *Journal of Infectious Diseases* **184**, 497–503.
- MCCALL, P. J., TOWNSON, H. & TREES, A. J. (1992). Morphometric differentiation of *Onchocerca volvulus* and *O. ochengi* infective larvae. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **86**, 63–65.
- OMAR, M. S. & GARMS, R. (1981). Histochemical differentiation of filarial larvae found in *Simulium damnosum* s.l. in West Africa. *Tropical Medicine and Parasitology* **32**, 259–264.
- PHILIPPON, B. (1976). Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* (Theobald, 1903) (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. *Travaux et documents de l'ORSTOM*, 1–308.

- PHILIPPON, B., REMME, J. H., WALSH, J. F., GUILLET, P. & ZERBO, D. G. (1990). Entomological results of vector control in the Onchocerciasis Control Programme. *Acta Leidensia* **59**, 79–94.
- PHILIPPON, B. & SÉKÉTÉLI, A. (1998). The beginning of the OCP and the status of onchocerciasis in western Africa before control measures. *Cahier Santé* **8**, 27–31.
- REMME, J., DADZIE, K. Y., ROLLAND, A. & THYLEFORS, B. (1989). Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. I. West African savannah. *Tropical Medicine and Parasitology* **40**, 340–347.
- SÉCHAN, Y. (1984). Développement d'onchocercques animales chez le vecteur de l'onchocercose humaine *Simulium sirbanum* (Vajime et Dunbar, 1975), en zone subsaharienne du Mali Afrique de l'ouest. *Travaux et documents de l'ORSTOM* **178**, 234.
- TOË, L., MERRIWEATHER, A. & UNNASCH, T. R. (1994). DNA probe based classification of *Simulium damnosum* s.l. borne and human derived filarial parasites in the Onchocerciasis Control Programme area. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **51**, 676–683.
- TOË, L., BACK, C., ADJAMI, A. G., TANG, J. M. & UNNASCH, T. R. (1997a). *Onchocerca volvulus*: Comparison of field collection methods for the preservation of parasite and vector samples for PCR analysis. *Bulletin of the World Health Organization* **75**, 443–447.
- TOË, L., TANG, J., BACK, C., KATHOLI, C. R. & UNNASCH, T. R. (1997b). Vector-Parasite transmission complexes for onchocerciasis in West Africa. *The Lancet* **349**, 163–166.
- UNNASCH, T. R. & MEREDITH, S. E. O. (1996). The use of degenerate primers in conjunction with strain and species oligonucleotides to classify *Onchocerca volvulus*. In *Species Diagnostic Protocols: PCR and other Nucleic Acid Methods* (ed. J. P. Clapp), pp. 293–303. Humana Press, Totowa, NJ, USA.
- WALSH, J. F., MOLYNEUX, D. H. & BIRLEY, M. H. (1993). Deforestation: effects on vector-borne disease. *Parasitology* **106**, S55–S75.
- WILSON, M. D., POST, R. J. & GOMULSKI, L. M. (1993). Multivariate morphotaxonomy in the identification of adult females of the *Simulium damnosum* Theobald complex (Diptera: Simuliidae) in the Onchocerciasis Control Programme area of West Africa. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **87**, 65–82.
- WILSON, M. D., CHEKE, R. A., FLASSE, S. P., GRIST, S., OSEI-ATEWENEBOANA, M. Y., TETTEH-KUMAH, A., FIASORGBOR, G. K., JOLLIFFE, F. R., BOAKYE, D. A., HOUGARD, J. M., YAMEOGO, L. & POST, R. J. (2002). Deforestation and the spatio-temporal distribution of savannah and forest members of the *Simulium damnosum* complex in southern Ghana and south-western Togo. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **96**, 632–639.
- YAMÉOGO, L., TOË, L., HOUGARD, J.-M., BOATIN, B. A. & UNNASCH, T. R. (1999). Pool Screen PCR for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum sensu lato*: Results of a field trial in an area subject to successful vector control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **60**, 124–128.
- ZIMMERMAN, P. A., DADZIE, K. Y., DESOLE, G., REMME, J., ALLEY, E. S. & UNNASCH, T. R. (1992). *Onchocerca volvulus* DNA probe classification correlates with epidemiological patterns of blindness. *Journal of Infectious Diseases* **165**, 964–968.
- ZIMMERMAN, P. A., TOË, L. & UNNASCH, T. R. (1993). Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Molecular and Biochemical Parasitology* **58**, 259–269.

Article 6 :

**Impact des modifications bioclimatiques sur la distribution
des vecteurs de l'onchocercose dans les foyers du bas
Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire**

Adjami AG, Toe L, Sanfo M.S., Aké F.,
N'guessan K.E. Dibi H. Bissan Y, Yameogo L. (Soumis).

Présentation synthétique de l'article

1. Objectif :

Étudier l'évolution des populations vectorielles et parasitaires au regard des changements climatiques et environnementaux.

2. Matériels et méthodes

Zone d'étude : L'étude a été menée dans le sud forestier la Côte d'Ivoire, précisément dans les foyers onchocerquiens du bas Bandama et de la basse Comoé.

Méthodes : L'objectif ci-dessus a été recherché par l'analyse de séries chronologiques. Ainsi, les variations inter annuelles des densités des groupes de vecteurs forestiers et sylvicoles de 1980 à 1998, ainsi que les quantités de transmission, ont été analysées. L'évolution climatique a été étudiée par l'analyse de séries pluviométriques de 1963 à 2000 et des isohyètes moyennes annuelles de 1931 à 1995, dans la zone d'étude. L'évolution du couvert végétal a été mise en évidence par l'analyse d'images satellitaires.

3. Résultats

Les résultats d'analyse révèlent une baisse sensible de la pluviométrie et une diminution du couvert végétal. Parallèlement, on observe une augmentation de la proportion des espèces vectrices du groupe de savane. Ces dernières ont connu une augmentation exponentielle dans la décennie 1986-1996, et occupent depuis lors quasi exclusivement ce biotope de forêt dégradé. Ce phénomène a entraîné une augmentation des quantités de transmission de la souche de savane d'*Onchocerca volvulus*.

4. Conclusions

L'inversion de composition des populations vectrices est épidémiologiquement importante car affectant un vecteur associé en d'autres lieux à une onchocercose grave. Le renforcement de la surveillance entomologique et le traitement à l'ivermectine sous directive communautaire dans ces zones, apparaissent nécessaire.

Impact des modifications bioclimatiques sur la distribution des vecteurs de l'onchocercose dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire

Résumé

Cet article analyse l'évolution des populations de vecteurs et des parasites de l'onchocercose humaine survenue au cours des dernières décennies dans la zone forestière de la Côte d'Ivoire, au regard des changements climatiques et environnementaux qui ont affecté cette zone pendant la même période. L'étude, a été menée dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé.

L'étude révèle une baisse sensible de la pluviométrie et une diminution du couvert végétal. Parallèlement, les séries chronologiques des données relatives à l'identité et aux densités des populations de *Simulium damnosum s.l.*, mettent en évidence une augmentation statistiquement significative de la proportion des espèces de savane de ce complexe ($P < 0.0001$). Les analyses révèlent par ailleurs que l'augmentation relative de la proportion des femelles savanicoles piqueuses induit une augmentation des taux des femelles savanicoles piqueuses infectieuses et une élévation des quantités de transmission de la souche de savane d'*Onchocerca volvulus*.

On en déduit que les transformations bioclimatiques entraînent un risque plus accru d'expansion de l'onchocercose de savane dans les zones concernées.

L'étude conclut à la nécessité de renforcer la surveillance entomologique et le traitement à l'ivermectine sous directive communautaire dans ces zones, pour un meilleur contrôle de la maladie ; et au besoin d'approfondir et de multiplier ce type d'études.

Mots clefs : onchocercose ; forêt ; savane ; changements climatiques ; déforestation ; migrations humaines ; espèces de *Simulium damnosum s.l.* ; souches d'*Onchocerca volvulus*

1. Introduction

L'onchocercose est une filariose à transmission vectorielle causée par *Onchocerca volvulus*. La transmission de la filaire d'homme à homme est assurée par la piqure de simulies, Diptères Nématocères appartenant à la famille des Simuliidae et au genre *Simulium* Latreille. Ce système vectoriel, comme celui de la plupart des maladies à vecteurs, est tributaire de son environnement bioclimatique. Cette dépendance est très marquée dans le cas de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, où la zonation bioclimatique particulièrement nette, engendre des écosystèmes favorables à des complexes de transmission simulies / onchocerques distincts et incidemment, associés à des faciès cliniques de la maladie géographiquement variés. En Afrique de l'Ouest évoluent plusieurs espèces vectrices du complexe *damnosum*, ainsi que deux formes génétiquement distinctes d'*O. volvulus*, qui s'associent en couples de transmission différents selon la zone bioclimatique, et sont associés à deux faciès épidémiologiques principaux de l'onchocercose : les types dits « savane » et « forêt ». Dans les zones de type "savane" sévit une onchocercose plus grave au plan oculaire, caractérisée par des lésions de l'oeil (souvent du segment antérieur) précoces, susceptibles d'évoluer jusqu'à des stades avancés et pouvant entraîner des taux de cécités élevés (jusqu'à 10% de la population), outre des taux bien plus élevés de handicaps visuels sévères, dans certains villages d'hyperendémie (Prost, 1980). D'où le nom d'onchocercose cécitante ou de cécité des rivières, donné au type de savane. En outre, c'est avec le type épidémiologique de savane qu'on notait dans les vallées les plus infestées des bandes de terres riveraines inoccupées par l'homme.

En zone de forêt, les couples de transmission sont généralement associés à une onchocercose oculaire beaucoup moins grave, dans laquelle les pathologies cutanées (altérations dermiques, prurit ...) prennent le dessus avec des lésions oculaires tardives, moins fréquentes et moins avancées et des cécités d'origine onchocerquienne rares (affectant en majorité le segment postérieur de l'oeil) (Prost, 1980). Les vallées infestées restent peuplées.

La cible initiale de l'OCP (Onchocerciasis Control Programme), exécuté dans 11 pays endémiques d'Afrique de l'Ouest sous l'égide de l'Organisation mondiale de la Santé, de 1974 à 2002, était l'onchocercose cécitante à cause de son impact socio-économique, à l'exclusion de l'onchocercose de forêt. Les limites initiales du Programme épousaient donc l'aire de distribution de l'onchocercose de type savane. Des extensions territoriales ont ultérieurement été mises en place (entre 1979 et 1990) pour protéger cette aire des ré-

invasions par des simulies migrantes exogènes (figure 1). La stratégie de lutte antivectorielle ciblait par conséquent les simulies savanicoles, dans le but de rompre définitivement le cycle de transmission de la forme cécitante du parasite. En 1996, la mission de l'OCP a été redéfinie pour intégrer le contrôle de la morbidité onchocerquienne, y compris en zone d'onchocercose de type forêt en utilisant la distribution communautaire de l'ivermectine comme stratégie de lutte.

Cependant, au cours des dernières décennies, on a observé chez *S. damnosum* s.s. et dans une moindre mesure chez *S. sirbanum*, espèces originellement prédominantes seulement en zone de savane et connues pour être les vecteurs efficaces de la souche cécitante du parasite, une tendance à s'étendre vers les zones forestières, conséquence probable d'une déforestation intense et/ou de réchauffement global (Post & Crosskey, 1985 ; Baker et al., 1990 ; Garms et al., 1991 ; Wilson et al., 2002 ; Adjami et al., 2004). Un autre facteur susceptible d'affecter l'épidémiologie onchocerquienne dans les zones de forêts dégradées, est celui des mouvements de populations humaines à partir des zones de savane où prévalait l'onchocercose cécitante, vers le sud forestier. Ces mouvements, amorcés bien avant la mise en place des programmes de lutte contre la maladie en Afrique de l'Ouest, sont susceptibles d'influer sur la composition du réservoir local du parasite.

L'impact de ces modifications sur la distribution spécifique des populations vectorielles est encore peu connu, de même que les risques de transmission de la souche cécitante du parasite dans la nouvelle aire de répartition des vecteurs de savane.

Le présent article se propose d'analyser l'évolution des populations vectorielles et parasitaires en regard des changements climatiques et environnementaux, ainsi que les risques d'extension de l'onchocercose cécitante.

2. Description des foyers d'étude

L'étude a été menée dans deux foyers d'onchocercose forestière de la Côte d'Ivoire : le foyer du bas Bandama et celui de la basse Comoé (figure 2).

Le foyer du bas Bandama est situé au sein du secteur mésophile du domaine guinéen de la Côte d'Ivoire, dans une zone pré-forestière située à la pointe sud de l'avancée de la savane dans la forêt dense humide semi-décidue, avancée connue sous le nom de "V Baoulé" (figure 2). Le faciès botanique dans ce foyer d'onchocercose apparaît comme une transition entre les formations herbacées du «V Baoulé» et la forêt dense sempervirente du sud de la Côte d'Ivoire (Gauthier, 1989).

Le climat y est de type tropical humide (climat baouléen en appellation locale) avec quatre saisons dont une grande et une petite saison sèche (novembre-mars et août respectivement) ; les saisons pluvieuses durent d'avril à juillet pour la plus grande et de septembre à octobre pour la plus courte. Les maximums pluviométriques s'enregistrent en juin et en septembre. La petite saison sèche et la petite saison pluvieuse sont relativement discrètes. L'harmattan y est bien sensible pendant tout le mois de janvier, mais peut parfois persister pendant six mois sous un régime dégradé.

Le foyer de la basse Comoé est à cheval sur les secteurs ombrophile et mésophile du domaine guinéen ivoirien. Tandis que la partie septentrionale est dans une zone pré-forestière, la partie méridionale est dans une zone naguère occupée par la forêt primaire, mais fortement affectée par le défrichement. Le climat y est de type équatorial à quatre saisons bien marquées : une grande saison des pluies d'avril à juillet et une plus courte de septembre à novembre, séparées par deux saisons sèches (une petite de juillet à septembre, et une plus grande de décembre à mars).

On trouve dans ces foyers de nombreuses plantations de caféiers, cacaoyers, palmiers à huile, hévéas, ananas. Ce développement agricole a marqué l'environnement végétal. Le vaste massif forestier qui naguère couvrait ces foyers à l'instar de tout le sud du pays a fait place à de vastes exploitations agricoles disséminées au sein d'une forêt secondaire. Par ailleurs, en termes de migrations des populations humaines, le sud forestier constitue un pôle d'attraction pour les immigrants venant d'autres régions du pays (le centre et le nord notamment) et des pays limitrophes. La plupart viennent en quête de terres pour s'adonner aux cultures marchandes ou à la pêche sur les lacs de barrages hydroélectriques comme ceux de Taabo et de la Bia.

La lutte antivectorielle dans le bas Bandama a véritablement débuté dans le cadre d'OCP avec la mise en place des aires d'extension en 1979, et fut poursuivie pendant 20 ans, de 1979 à 1998. L'ivermectine fut introduite dans ce foyer à partir de 1993 et sa distribution fut menée ensuite parallèlement à la lutte antivectorielle.

A l'instar du foyer du bas Bandama, celui de la basse Comoé a fait partie des aires d'extension au sud de l'aire initiale d'OCP. La lutte antivectorielle y a effectivement débuté en mars 1981 et la distribution de masse de l'ivermectine en 1993. Toutefois, la qualité d'observance du suivi du traitement par l'ivermectine sous directive communautaire (TIDC) qui a été mis en oeuvre depuis lors, est difficilement appréciable.

3. Nature des travaux réalisés

3.1. Les données climatiques et environnementales

Nous avons effectué les analyses de tendances de pluviométrie à partir de données fournies par la direction de la météorologie nationale (SODEXAM). L'évolution du couvert végétal a été mise en évidence par l'analyse des images du bas Bandama prises par le satellite Landsat en 1990 et en 2000.

3.2. Les données entomologiques

Pour l'étude des données entomologiques, les résultats des identifications des filaires que nous avons réalisées avec les outils de biologie moléculaire, ont été analysés avec les résultats entomologiques de terrain (densité, transmission, identité des vecteurs), récoltés au cours des activités régulières de surveillance entomologique d'OCP, de 1979 à 1998. Ces derniers ont été obtenus à partir de collectes hebdomadaires ou bimensuelles standardisées faites sur les gîtes de *S. damnosum s.l.* du bas Bandama : Chutes Gauthier (4°57' W ; 6°08' N), Taabo (5°08' W ; 6°14' N), Bériaboukro (5°18' W ; 6°23' N) et de la basse Comoé : Amiankouassikro (3°38'27'' W ; 6°29'30''N), Betié (3°29' W ; 6°16'N), Koutoukro (3°35'W ; 5°37'N). Ces données entomologiques, sont pour la plupart celles d'OCP. Certaines données, issues des travaux antérieurs à l'OCP, ont été extraites de Philippon (1977) et Quillévé (1979).

Les espèces de *S. damnosum* s.l. présentes sur les gîtes proches du site de capture ont été identifiées au stade larvaire par l'examen des inversions au niveau des chromosomes géants des glandes séricigènes (Quillévéré, 1979). Les femelles de *S. damnosum* s.l. avaient été capturées sur appât humain (Le Berre, 1966 ; Philippon, 1977) et catégorisées par l'analyse des caractères morphologiques permettant de distinguer le groupe des simules de forêt de celui de savane et d'identifier spécifiquement *S. yahense* (Wilson, 1993). La dissection des femelles de simules permet la détermination de l'âge physiologique et l'établissement d'indices de transmission dont le plus couramment utilisé est le Potentiel Annuel de Transmission (PAT) (Walsh et al., 1978). Le PAT représente le nombre théorique de larves infectantes morphologiquement indifférenciables d'*O. volvulus* que recevrait en un an une personne exposée en continu à l'agressivité des simules (chaque jour de l'année pendant toute la journée). Les larves infestantes (L3 céphaliques) trouvées lors de la dissection ont été identifiées par des techniques de biologie moléculaire utilisant la PCR (Polymerase Chain Reaction) (Meredith et al., 1991) et des sondes d'ADN génomique (Erttman et al., 1990). Ces techniques permettent de distinguer l'onchocerce de l'homme *O. volvulus*, d'une part, et les onchocercs d'origine animale, dont *O. ochengi*, d'autre part ; par ailleurs, au sein d'*O. volvulus*, elles permettent la distinction entre la souche dite de forêt (Erttman et al., 1987) et celle dite de savane (Zimmerman et al., 1993).

3.3. Analyse statistique

L'évolution des populations de vecteurs a été analysée par le test de tendance des proportions de Cochran Armitage du logiciel XLSTAT version 2006. Les analyses statistiques visant à établir des corrélations chez les simules savaniques entre les proportions de femelles piqueuses et celles des femelles piqueuses infectieuses d'une part, et entre les proportions de femelles savaniques piqueuses et les proportions de L3 d'*O. volvulus* de souche savane chez les larves infectantes d'autre part, ont été réalisées par des tests de régression linéaire en utilisant le logiciel "SPSS 12.0.1 for Windows".

4. Résultats

4.1. Pluviométrie et déforestation

L'analyse des données de pluviométrie recueillies à la station de Lamto sur le bas Bandama, indique globalement une tendance à la baisse sur la période 1963 – 1998 (figure 3). Cette baisse sensible de la pluviométrie est également illustrée par le déplacement latitudinal des isohyètes moyennes vers le sud de 1931 à 1995 (figures 4a-4g), exception faite de la période 1951-1960, qui apparaît comme la mieux arrosée. Cette translation des isohyètes annuels moyens a probablement eu pour conséquence des changements dans la zonation latitudinale des climats du pays. Ainsi, l'isohyète 1200 mm qui représente, selon les climatologues, la limite entre les climats tropical humide et tropical sec, passait loin au nord de la bordure septentrionale des deux foyers étudiés au cours de la décennie 1931-1940 (figure 4a), s'est progressivement déplacée vers le sud, englobait en 1995 le foyer du bas Bandama et longeait le nord de celui de la basse Comoé (figure 4g), plaçant par conséquent ces deux foyers en limite de zones tropicale humide et tropicale sèche.

Il apparaît probable que le déficit hydrique engendré par la baisse de la pluviométrie ait eu un impact sur le couvert végétal. L'étude de l'évolution des types de végétations dans le foyer du bas Bandama montre une nette régression de la surface forestière (forêts denses et forêts galeries) au profit de savanes de plus en plus arbustives (figures 5a & 5b). Cette "savanisation" de la végétation est probablement le fait de l'action conjuguée de plusieurs facteurs naturels climatiques et de l'action de l'homme.

4.2. Evolution de la distribution des vecteurs

L'analyse des variations interannuelles de la composition des populations de *S. damnosum s.l.* dans les deux foyers d'étude indique une augmentation au fil du temps des vecteurs de savane (figures 6a et b). Cette augmentation est statistiquement très significative dans les deux foyers ($P < 0.0001$) (tableau 1). Dans le foyer du bas Bandama, les courbes de l'évolution des femelles d'espèces savaniques présentent une allure sigmoïdale (en forme de S) continue, caractérisées par trois périodes (figure 6a) : de 1980 à 1984 (et probablement bien avant 1980), les espèces savaniques étaient présentes en faibles proportions (proportions moyennes annuelles inférieures à 10%) ; de 1984 à 1987, les proportions des espèces savaniques ont augmenté de façon exponentielle (zone d'inflexion des courbes) ; à partir de 1987, les espèces savaniques sont majoritaires dans le foyer (proportions moyennes annuelles supérieures à 50%). Dans le foyer de la basse Comoé, la phase de

croissance exponentielle des proportions des femelles savanicoles ne commence qu'à partir de 1991, année avant laquelle leurs proportions moyennes annuelles n'excédaient pas 5% (figure 6b).

L'analyse des variations mensuelles (ou saisonnières) des groupes d'espèces forestières et savanicoles corrobore les observations précédentes. En effet, dans le foyer du bas Bandama, les moyennes mensuelles indiquent que de 1980 à 1984, les proportions des savanicoles étaient inférieures à celle des forestières, à l'exception d'octobre 1982 et de mai et juin 1983 et 1984. A l'opposé, dans la période 1991-1994, les savanicoles sont majoritaires en tout mois, excepté novembre (figures 7). Dans le foyer de la basse Comoé, jusqu'en 1990, les proportions de femelles savanicoles restaient largement inférieures à celles des forestières à tous les mois, excepté de mai à juillet 1982. Dans la période 1995-1998, les proportions des femelles savanicoles étaient, à chaque mois, largement supérieures (ou égales dans quelques cas) à celles des forestières (figures 8).

L'analyse de la composition spécifique des populations larvaires de *S. damnosum s.l.* montre une corrélation synchrone avec les variations de composition spécifique des populations de femelles. Les résultats de ces identifications indiquent que *S. sanctipauli* (espèce forestière), espèce initialement majoritaire dans les deux foyers d'étude, a été remplacée par *S. damnosum s.s.* (espèce savanicole) (figures 9 et 10).

4.3 Evolution de la transmission

Etude des corrélations entre femelles piqueuses, femelles infectieuses et souches de savane d'O. volvulus

Dans le but d'évaluer le risque de transmission lié à l'augmentation de la densité des femelles savanicoles dans les deux foyers, nous avons estimé la corrélation : i) entre les populations de femelles piqueuses savanicoles et celles des seules infectieuses savanicoles piqueuses, et ii) entre les populations de femelles piqueuses savanicoles et celles de L3 d'*O. volvulus* de savane.

Dans le foyer du bas Bandama, l'analyse de l'évolution des proportions moyennes de femelles piqueuses savanicoles et celles des infectieuses savanicoles de *S. damnosum s.l.*

permet de distinguer deux périodes (figure 11) : la première, de 1980 à 1992, pendant laquelle on observe une relation statistiquement significative ($P < 0.0001$) entre les deux proportions (figure 12a et tableau 2) ; la seconde, de 1993 à 1998, au cours de laquelle la relation n'est pas statistiquement significative ($P = 0.061$) : figure 12b et tableau 2. L'ivermectine, introduite dans ce foyer en 1993, a été régulièrement administrée aux populations pendant cette seconde période.

Dans le foyer de la basse Comoé, l'évolution des proportions moyennes de femelles savanicoles piqueuses et infectieuses est illustrée à la figure 13. Ces deux populations simulidiennes montrent une association statistiquement significative pendant toute la durée de l'étude ($P < 0.0001$) (figure 14, tableau 3).

Au niveau des systèmes de transmission vecteurs / parasites, les droites de régression des figures 15 rendent compte de l'évolution des proportions des larves infectantes d'*O. volvulus* de savane en fonction de celles des femelles savanicoles piqueuses. Dans le foyer du bas Bandama, on n'observe pas de relation statistiquement significative entre populations vectorielles et parasitaires de savane ($P = 0.950$). A l'opposé dans celui de la basse Comoé, ces populations ont une relation statistiquement significative ($P = 0.017$; tableau 4). On en déduit que l'augmentation de la densité des femelles savanicoles dans ce foyer induit une augmentation de la transmission de la souche de savane d'*O. volvulus*.

Evolution des Potentiels Annuels de Transmission (PAT)

L'analyse de l'évolution des potentiels annuels de transmission dans les deux foyers a concerné les PAT bruts calculés sur l'ensemble des femelles de *S. damnosum* s.l. (toutes espèces confondues) d'une part et les PAT savane calculés sur les femelles savanicoles uniquement d'autre part (figures 16 & 17).

Globalement, il ressort de cette analyse que les PAT bruts ont connus une réduction drastique dans les deux foyers, passant parfois de 10000 larves infectantes /homme/an au début de la lutte (exemple de Koutoukro sur la basse Comoé en 1981) à des valeurs proches de zéro après deux décennies de lutte.

L'analyse révèle par ailleurs que jusqu'en 1993-1994 la transmission était assurée exclusivement par les simulies de forêt : figures 16 & 17.

Dans le foyer du bas Bandama, un accroissement des PAT savane a été observé pendant deux années consécutives aux Chutes Gauthier (de 1994 à 1996) et à Taabo (de

1993 à 1995), et pendant trois années à Bériaboukro (de 1993 à 1996), avant que des mesures correctives de la lutte (ajustement des épandages de larvicides et de la distribution de l'ivermectine) aient été prises pour freiner cette reprise de la transmission. Dans le foyer de la basse Comoé, l'évolution des PAT savane est analogue à ceux du bas Bandama, à l'exception de Koutoukro (figure 17b) où il n'y a pas eu de baisse de cet indicateur.

5. Discussion

D'une manière générale, la connaissance de l'impact des changements climato-écologiques sur l'épidémiologie des maladies est relativement récent et affecte particulièrement les maladies à vecteurs. Il est connu par exemple que la déforestation a coïncidé avec la recrudescence du paludisme et/ou de son vecteur en Afrique (Coluzzi 1984, 1994; Coluzzi et al., 1979). Le schéma généralement admis pour expliquer l'impact des perturbations des écosystèmes naturels sur l'épidémiologie de ces maladies est que, dans une zone comme l'Afrique tropicale où les maladies parasitaires présentes sont en relations très étroites avec des zonalités géographiques (Picq et al., 1992), les modifications de l'écosystème se traduisent par une extension d'un complexe de transmission donné dans un nouvel habitat (Patz 2004). Les migrations de populations humaines peuvent contribuer à exacerber le phénomène (Marques, 1987).

Les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire où la déforestation et la baisse de la pluviométrie ont probablement contribué à créer des biotopes favorables à l'installation des simules de savane, et qui ont connu par ailleurs un afflux important d'immigrants, semblent bien correspondre à ces schémas.

Des observations similaires ont été notées au sud du Togo et au sud-ouest du Ghana, (Wilson et al., 2002). Quillévé (1979) a montré que certains cytotypes de *S. damnosum* s.l. sont, en Côte d'Ivoire, particulièrement tributaires de la pluviométrie, comme l'indiquait la répartition des espèces forestières *S. yahense* et *S. sanctipauli*, uniquement présentes dans les zones où la pluviométrie annuelle était supérieure à 1300 mm. La diminution relative des espèces forestières s'expliquerait donc par la baisse de la pluviométrie, illustrée par le déplacement vers le sud des isohyètes, qui serait plutôt favorable aux espèces de savane. Ces dernières, dans ce nouveau biotope, sont impliquées dans la transmission du parasite.

Une autre hypothèse pour expliquer l'inversion de l'abondance relative des simules forestières (*S. sanctipauli* principalement) et des simules savaniques (*S. damnosum* s.s.),

tant chez les femelles piqueuses que dans les populations larvaires, pourrait être l'effet de la pression insecticide exerçant une sélection négative sur les simules forestières. L'hypothèse semble peu probable parce que : i) la sélection insecticide aurait été beaucoup plus accélérée chez *S. damnosum s.l.* du fait de la brièveté du cycle vital de l'espèce (de l'œuf à l'adulte) et de la prolificité des femelles ; ii) la stratégie de la lutte antivectorielle, telle que menée par l'OCP, ciblait préférentiellement les espèces de savane ; iii) le phénomène de résistance de *S. damnosum* aux organophosphorés qu'on a observé pour la première fois en Afrique sur le bas Bandama, a concerné les espèces forestières et principalement *S. sanctipauli* (Guillet et al., 1980) ; la sélection insecticide (au demeurant rapidement contrée par la stratégie de rotation des larvicides) aurait donc agi théoriquement à l'avantage des populations forestières, à l'inverse de l'évolution observée.

Par ailleurs, l'analyse de l'évolution des populations de vecteurs étudiées révèle entre les deux foyers un décalage dans le temps de l'inversion des proportions respectives, plus tardive dans le foyer de la basse Comoé que dans celui du bas Bandama. Ce constat pourrait être mis en relation avec le déplacement latitudinal des isohyètes, également décalé dans le temps notamment en ce qui concerne l'isohyète 1200 mm qui marque la limite entre les climats tropicaux humide et sec. Cette observation conforte donc la thèse considérant les modifications bioclimatiques comme étant les principales causes de la prépondérance récemment établie des vecteurs simulidiens de savane dans ces foyers.

De plus, nous avons observé que la prédominance des simules savaniques, identifiée au stade adulte, est strictement corrélée à la proportion des stades larvaires de ces espèces aux sites d'étude. Par conséquent, il s'agit sans nul doute d'une évolution bioclimatique de colonisation de ces sites (forêt vers la savane) et non une migration temporaire d'adultes de zone de savane vers ses zones anciennement forêt évoluant vers un faciès bioclimatique de type savane.

Dans cette éventualité, l'on peut se demander pourquoi *S. sanctipauli* ou les autres espèces du groupe de forêt de *S. damnosum s.l.* n'ont pu s'adapter à ce changement environnemental ? En d'autres termes, pourquoi l'insecte ne développe-t-il pas de mécanismes de survie ? En général, en réponse à un tel stress environnemental, l'insecte développe un ensemble coordonné de réponses génétiques, métaboliques, physiologiques et comportementales devant être compensatoires et/ou adaptatives, lui permettant de surmonter

la menace et de maintenir son intégrité. Cependant, en subissant un facteur de stress intense, la réponse peut perdre sa valeur adaptative (fitness) et devenir dysfonctionnelle, ce qui peut résulter en une réduction de l'espérance de vie et/ou un échec reproductif. En tout état de cause, des investigations supplémentaires seront sans doute nécessaires pour une meilleure compréhension de ces phénomènes.

In fine, on est en droit de considérer que les modifications climatiques et environnementales en cours dans ces foyers, d'origine naturelle d'une part (réchauffement global), anthropique d'autre part (déboisement, pratiques agricoles) ont significativement contribué à induire une redistribution des espèces vectrices d'onchocercose et à favoriser la progression de la transmission de la souche cécitante de l'agent pathogène de la maladie.

L'analyse des données du foyer du bas Bandama indique que les populations savanicoles piqueuses et infectieuses avaient une liaison statistiquement significative jusqu'en 1992, année précédant l'introduction du TIDC. L'ivermectine, en réduisant les charges microfilariennes individuelles, diminue le contact vecteur / parasite. On a pu alors observer une baisse progressive de la proportion des femelles savanicoles infectieuses alors que celle des savanicoles piqueuses augmentait. Cette situation ne semble pas analogue à celui de la basse Comoé où les populations de femelles savanicoles piqueuses et infectieuses étaient corrélées pendant toute la durée de l'étude, probablement du fait d'une couverture thérapeutique et géographique ivermectine défailante. Cette hypothèse s'appuie sur les enquêtes épidémiologiques réalisées dans ce foyer en 1997 et 2002, qui indiquent une progression des lésions oculaires en direction d'un tableau clinique de type savane, qui classerait le foyer dans un type d'onchocercose intermédiaire sévère. De tels résultats sont d'autant plus préoccupants qu'il existe ailleurs en Afrique de l'Ouest des foyers similaires et que ce genre de constat pourrait risquer de se répéter dans d'autres foyers forestiers en cours de « savanisation ».

Il apparaît donc nécessaire que ce genre d'étude de corrélation soit répétée et approfondie, de procéder à une évaluation de la situation tant entomologique qu'épidémiologique dans les régions d'onchocercose forestière et d'y assurer un traitement optimisé à l'ivermectine sous directive communautaire (TIDC renforcé). Cette stratégie est à recommander pour toutes les zones forestières de l'ex-OCP, où la déforestation intensément

pratiquée et le flux important des migrations humaines peuvent favoriser une "savanisation" du faciès épidémiologique de la maladie.

Remerciements

Nous adressons nos remerciements aux entomologistes et techniciens de l'OCP et pour la qualité des données produites. Nos remerciements s'adressent également au personnel de la direction de la météorologie de Côte d'Ivoire, pour avoir mis à notre disposition les données de pluviométrie. Enfin, nous remercions les Drs Noma, Djingarey et à Mrs Nikiema P., Lingani C. pour leur aide à la réalisation de ce manuscrit.

Bibliographie

- Adjami AG, Toe L, Bissan Y, Bugri S, Yameogo L, Kone M, Katholi CR, Unnasch TR. 2004. The current status of onchocerciasis in the forest/savanna transition zone of Cote d'Ivoire. *Parasitology*. 128(4):407-14.
- Baker, R.H., Guillet, P., Seketeli, A., Poudiougou, P., Boakye, D., Wilson, M.D. and Bissan, Y. 1990. Progress in controlling the reinvasion of windborne vectors into the western area of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 328(1251):731-47, discussion 747-50.
- Coluzzi M., Sabatini A., Petrarca V. & Di Deco M.A. 1979. Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 73 : 483-497.
- Coluzzi M. 1984. Heterogeneities of the malaria vectorial system in tropical Africa and their significance in malaria epidemiology and control. *Bull WHO* 62 (suppl):107-113.
- Colozzi M. 1994. Malaria and the Afrotropical ecosystems : impact of man-made environmental changes. *Parassitologia* 36 : 223-227.
- Dadzie K.Y., Remme J., Baker R.H.A., Rolland A. & Thylefors B. 1990. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community III. West African rainforest foci of the vector *Simulium sanctipauli* . *Trop. Med. Parasitol.* 41 376-382.
- Erttman K.D., Meredith S.E.O., Greene B.M. & Unnasch T.R., 1990. Isolation and characterisation of form specific DNA sequences of *O. volvulus*. *Acta Leiden* 59 :253-260.
- Erttman K.D., Unnasch T.R. Greene B. M., Albiez E.J., Boateng J., Denke A.M., Ferraroni J.J., Karam M., Schulz-Key H. & Williams P.N., 1987. A DNA sequence specific for forest form *Onchocerca volvulus*. *Nature* 327 : 415-417.

- Gauthier L. 1989. Contact forêt-savane en Côte d'Ivoire centrale : évolution de la surface forestière de la réserve de Lamto (sud du V-Baoulé). *Bull. Soc. Bot. Fr., Actual. Bot.*, (3/4), 85-92.
- Garms R, Cheke RA, Sachs R. 1991. A temporary focus of savanna species of the *Simulium damnosum* complex in the forest zone of Liberia. *Trop Med Parasitol* ; 42(3):181-7.
- Guillet P., Escaffre H., Ouedraogo M. & Quillévéré D. 1980. Mise en évidence d'une résistance au téméphos dans le complexe *Simulium damnosum* [*S. sanctipauli* et *S. soubrense*] en Côte d'Ivoire. *Cah O.R.S.T.O.M., sér.ent. méd. et parasitol.*, vol XVIII, no3, 291-299.
- Le Berre R. 1966. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, 17, 204 p.
- Le Berre R., 1968. Bilan sommaire pour 1967 de lutte contre le vecteur de l'onchocercose. *Medecine d'Afrique noire*. 15 (2), 71-72.
- Marques A.C., 1987. Human migration and the spread of malaria in Brazil. *Parasitol Today* 3 : 166-170.
- Meredith, S.E.O., Lando, G., Gbakima, A.A. Zimmerman, P.A. & Unnasch, T.R. 1991. *Onchocerca volvulus* : application of polymerase chain reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp. Parasitol.*, 73, 335-344.
- Patz J.A., Daszak P., Tabor G.M., Aguirre A.A., Pearl M., Epstein J., Wolfe N.D., Kilpatrick A.M., Foutoupoulos J., Molyneux D. & Bradley D.J., and members of the working group on land use change and disease emergence. 2004. *Environmental health perspectives*. 112 (10) 1092-1098.
- Philippon B., 1977, Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (*Nematoda, Onchocercidae*) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (*Diptera, Simuliidae*) en Afrique tropicale. *Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M.* 63 , 308p.
- Picq J.J., Delmont J. & Nosny Y., 1992. Zones bioclimatiques tropicales et pathologie. *Médecine d'Afrique noire*. 39 (3).
- Post RJ, Crosskey RW. 1985. The distribution of the *Simulium damnosum* complex in Sierra Leone and its relation to onchocerciasis. *Ann Trop Med Parasitol*. 79(2):169-94.
- Prost A. 1980. Le polymorphisme des onchocercoses humaines ouest-Africaines. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 55, 239-245.
- Quillevere D. 1979. Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, bioécologiques et vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire. *Travaux et documents de l'ORSTOM*. N°109. 304pp.
- Rives M. & Serie F., 1967. L'onchocercose en Côte d'Ivoire. *Médecine d'Afrique noire*. N°10-, 483-488.

Walsh JF, Davies JB, Le Berre R & Garms R. 1978. Standardization of criteria for assessing the effect of *Simulium* control in onchocerciasis control programmes. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 72(6):675-6.

Wilson MD, Post RJ. & Gomulski LM. 1993. Multivariate morphotaxonomy in the identification of adult females of the *Simulium damnosum* Theobald complex (Diptera: Simuliidae) in the Onchocerciasis Control Programme area of West Africa. *Ann. Trop. Med Parasitol.*; **87**: 65-82.

Wilson MD, Cheke RA, Flasse SP, Grist S, Osei-Ateweneboana MY, Tetteh-Kumah A, Fiasorgbor GK, Jolliffe FR, Boakye DA, Hougard JM, Yameogo L & Post RJ. 2002. Deforestation and the spatio-temporal distribution of savannah and forest members of the *Simulium damnosum* complex in southern Ghana and south-western Togo. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*; 96(6):632-9.

Zimmerman P.A. Toe, L. & Unnasch, T.R., 1993. Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **58** : 259-268.

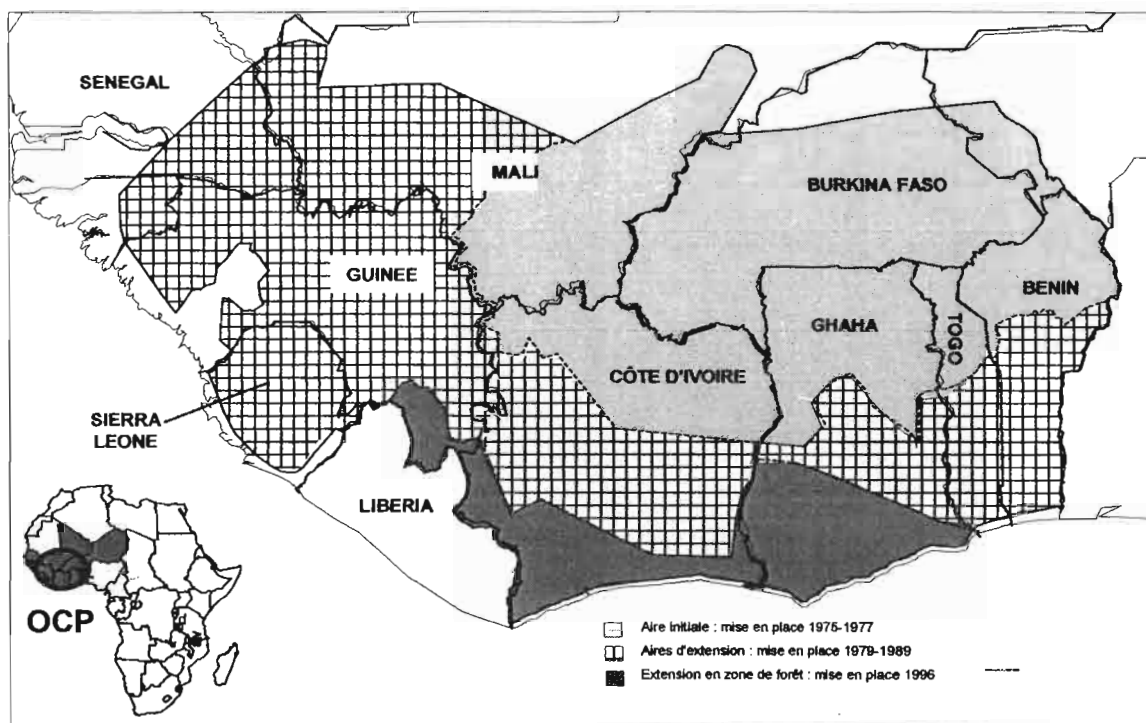


Figure 1 : Aire du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'ouest (OCP)

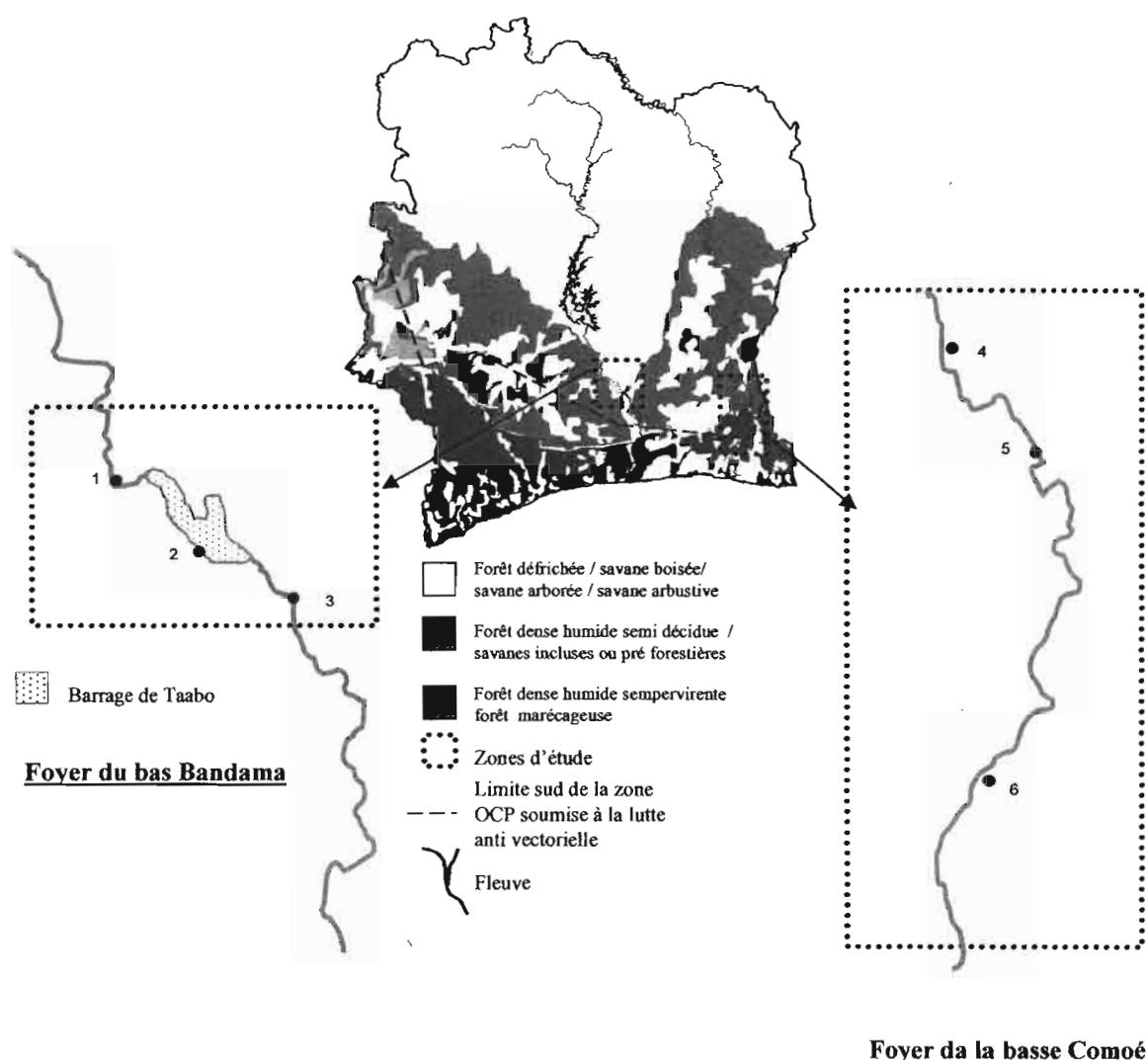


Figure 2 : Localisation des foyers d'étude

Foyer du bas Bandama: 1 = Bériaboukro, 2 = Taabo, 3 = chutes Gauthier

Foyer de la basse Comoé: 4 = Amiankoussikro, 5 = Bédié, 6 = koutoukro

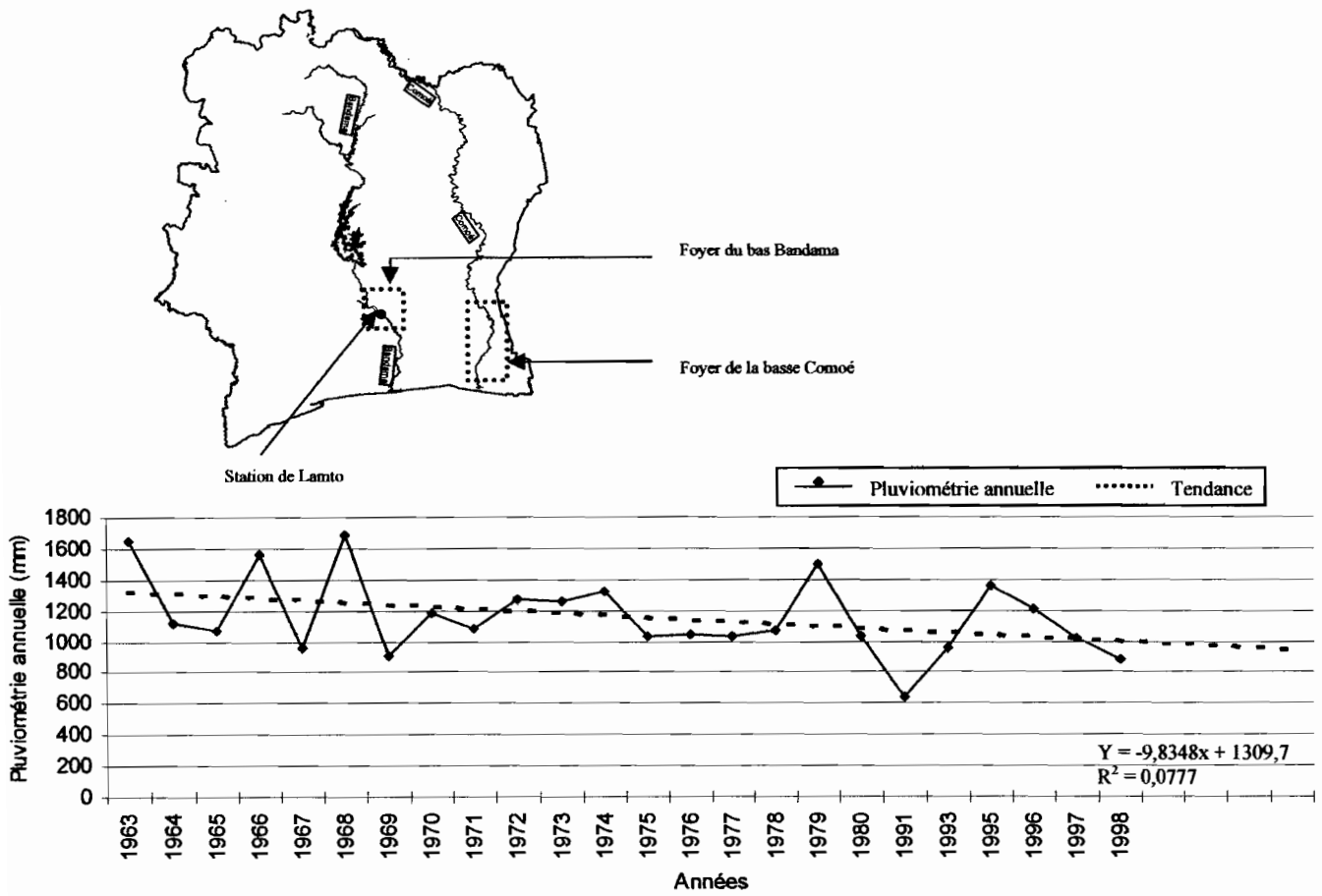
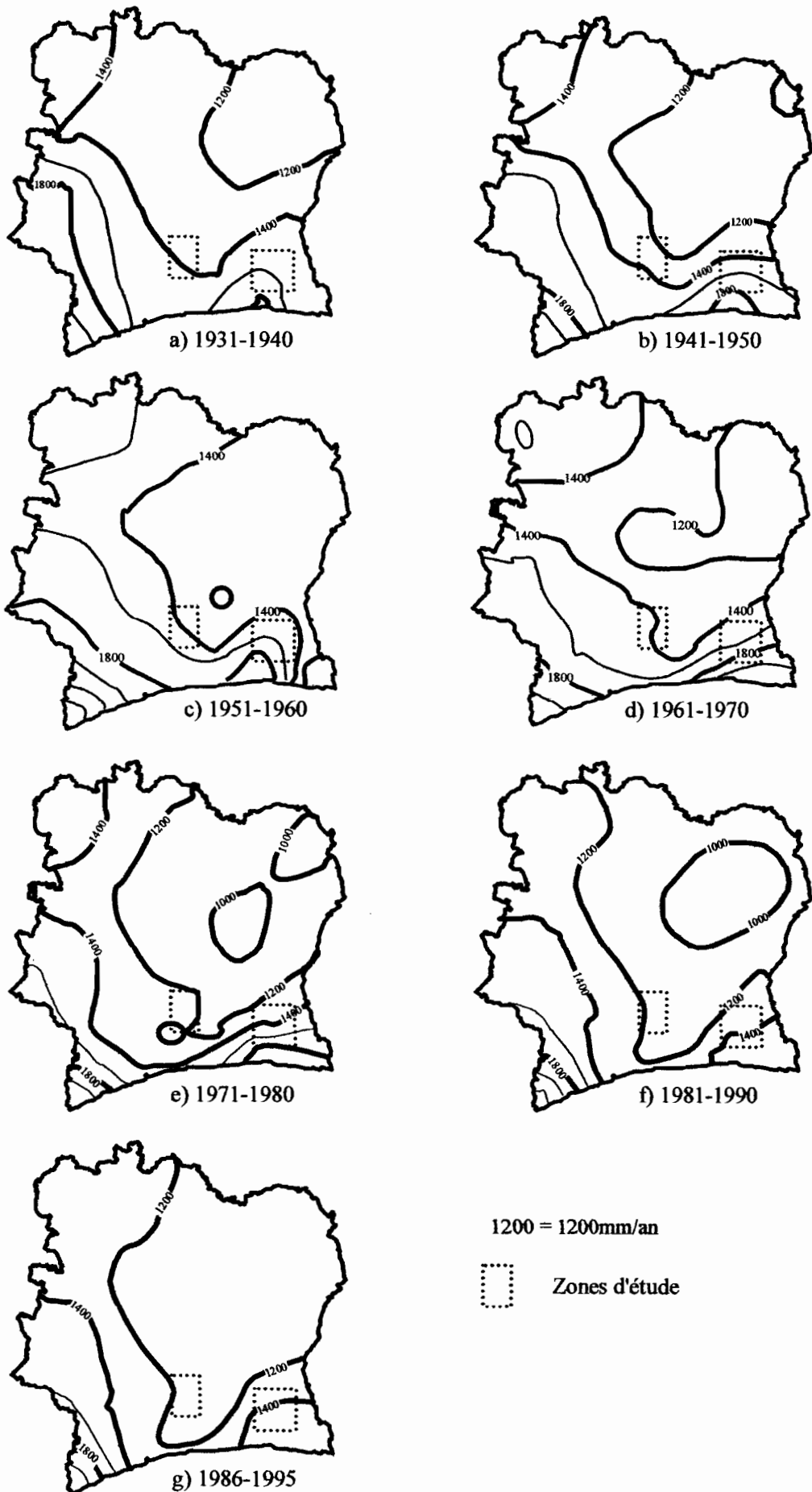
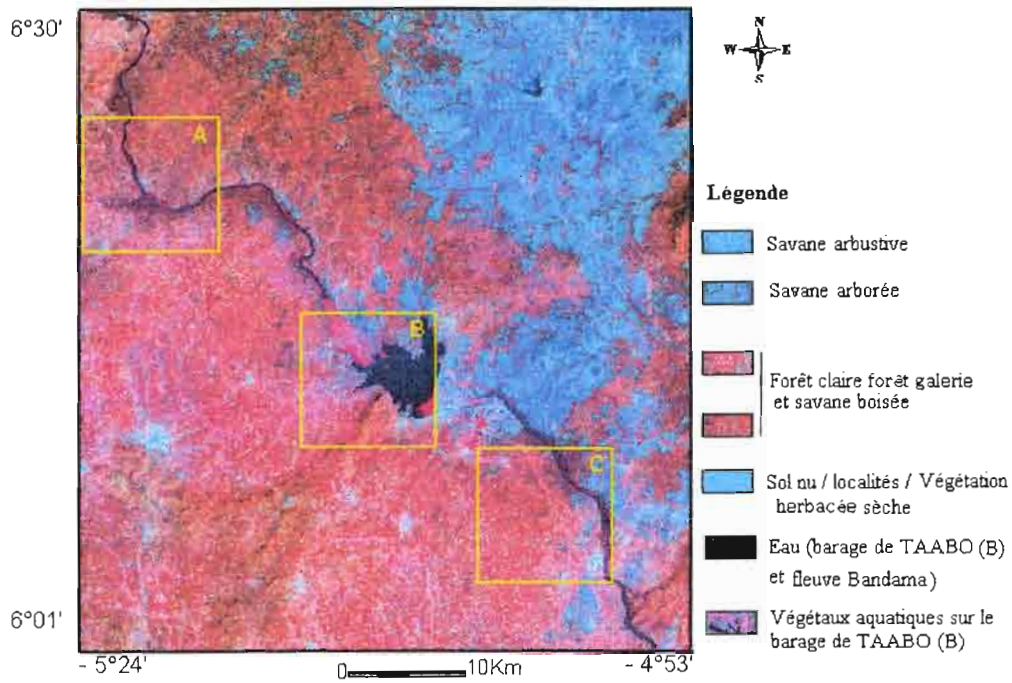


Figure 3 : Evolution et tendance de la pluviométrie annuelle 1963 -1998 à Lamto



Figures 4 (a-g) : Migration des isohyètes moyennes en Côte d'Ivoire : période 1931-1995

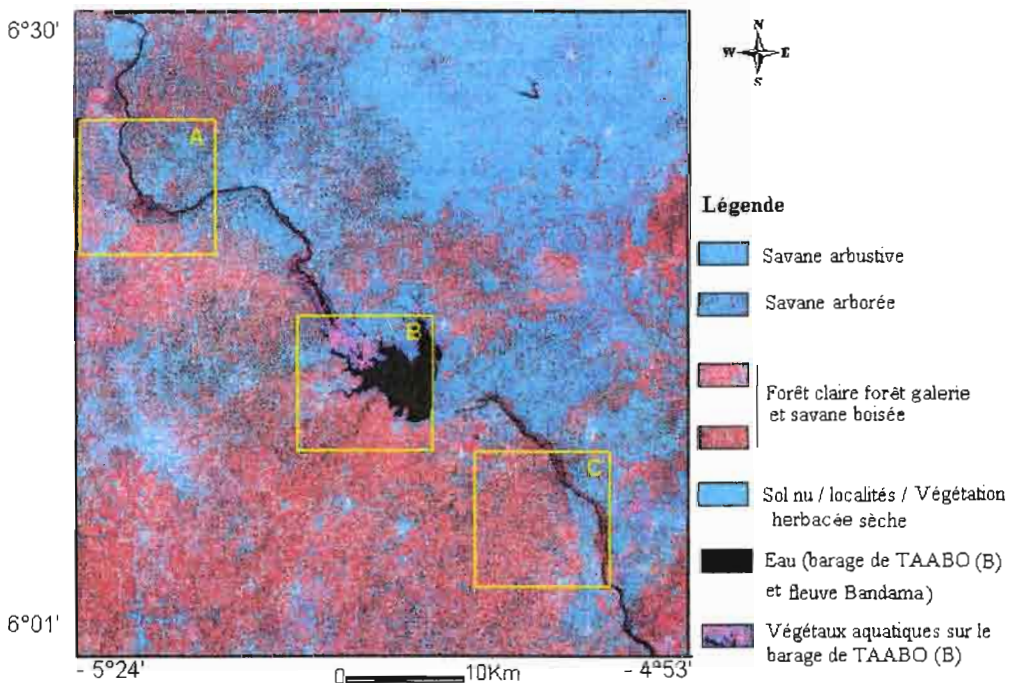


(5a) : composition colorée TM 473 de l'image Landsat TM du 30/12/1990

-A: point d'observation Bériabroukro ($-5^{\circ}18'W$, $6^{\circ}23'N$)

-B: point d'observation Taabo ($-5^{\circ}08'W$, $6^{\circ}14'N$)

-C: point d'observation chute Gautier ($-4^{\circ}57'W$, $6^{\circ}08'N$)



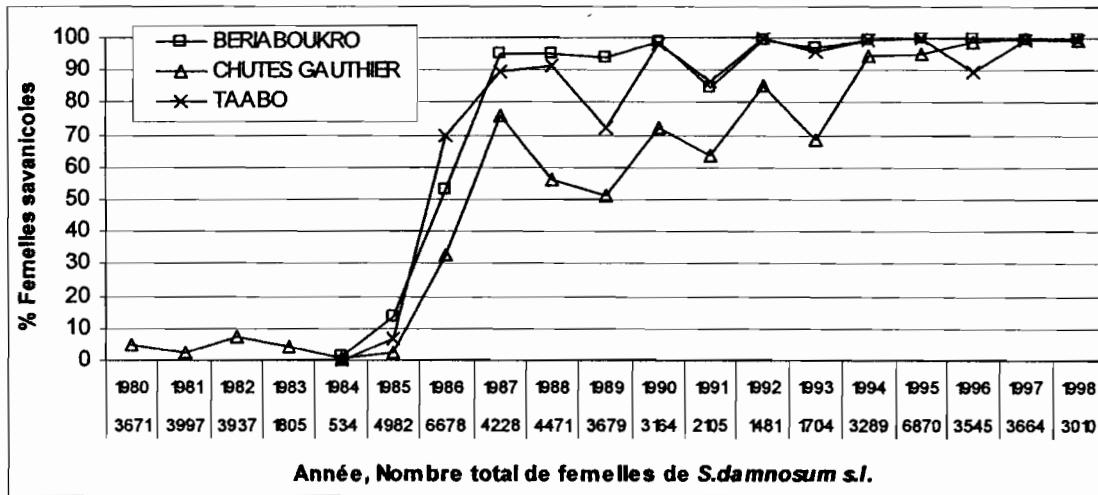
(5b): composition colorée ETM 473 de l'image Landsat ETM du 13/04/2000

-A: point d'observation Bériabroukro ($-5^{\circ}18'W$, $6^{\circ}23'N$)

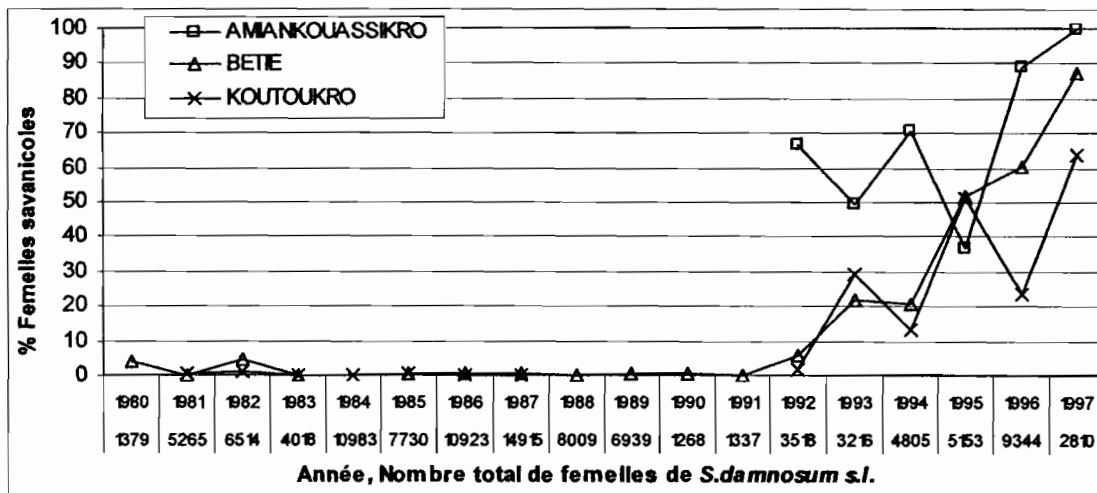
-B: point d'observation Taabo ($-5^{\circ}08'W$, $6^{\circ}14'N$)

-C: point d'observation chute Gautier ($-4^{\circ}57'W$, $6^{\circ}08'N$)

Figures 5a & 5b: Evolution du couvert végétal dans le foyer du bas Bandama en Côte d'Ivoire



a) bas Bandama

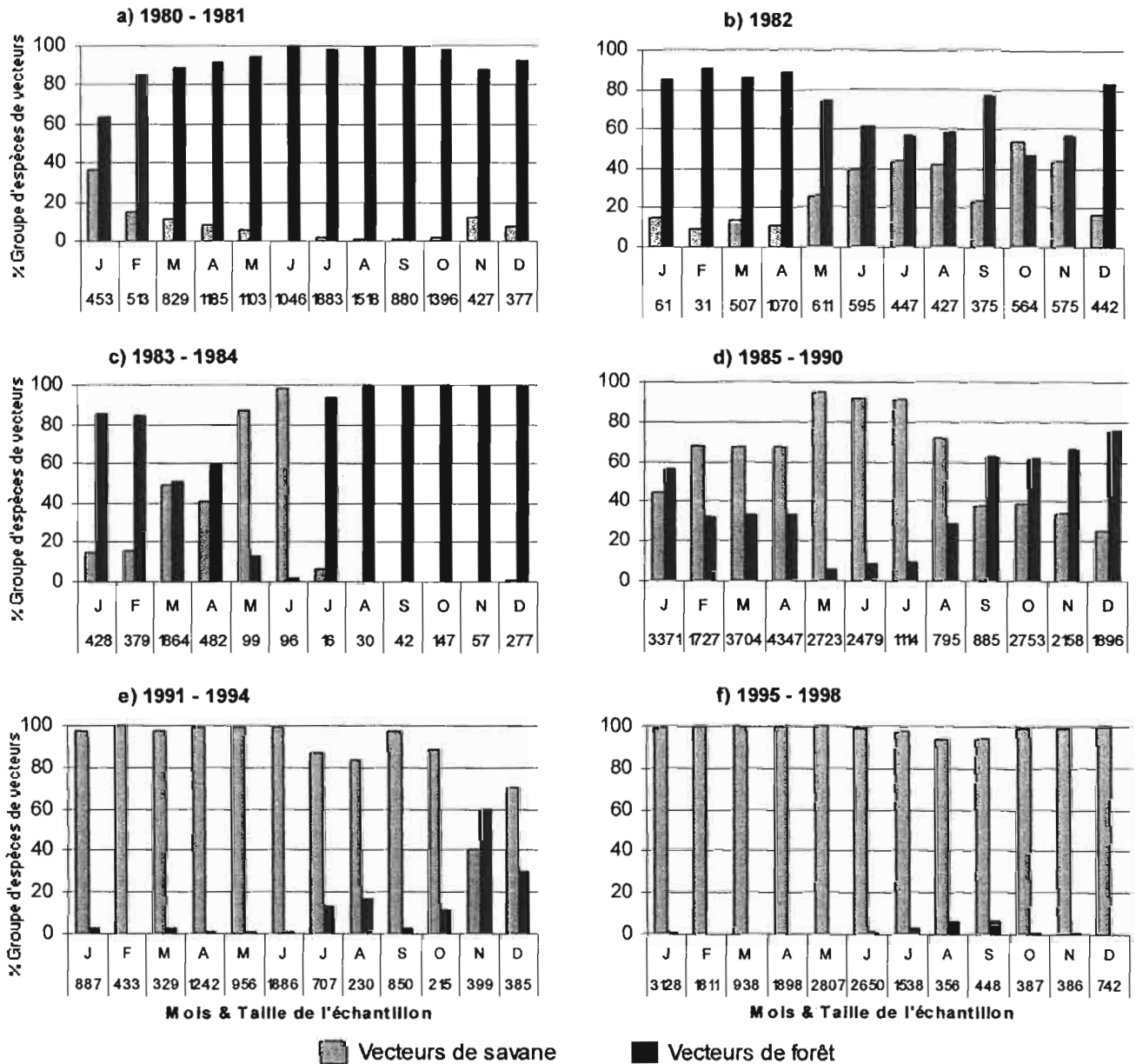


b) basse Comoé

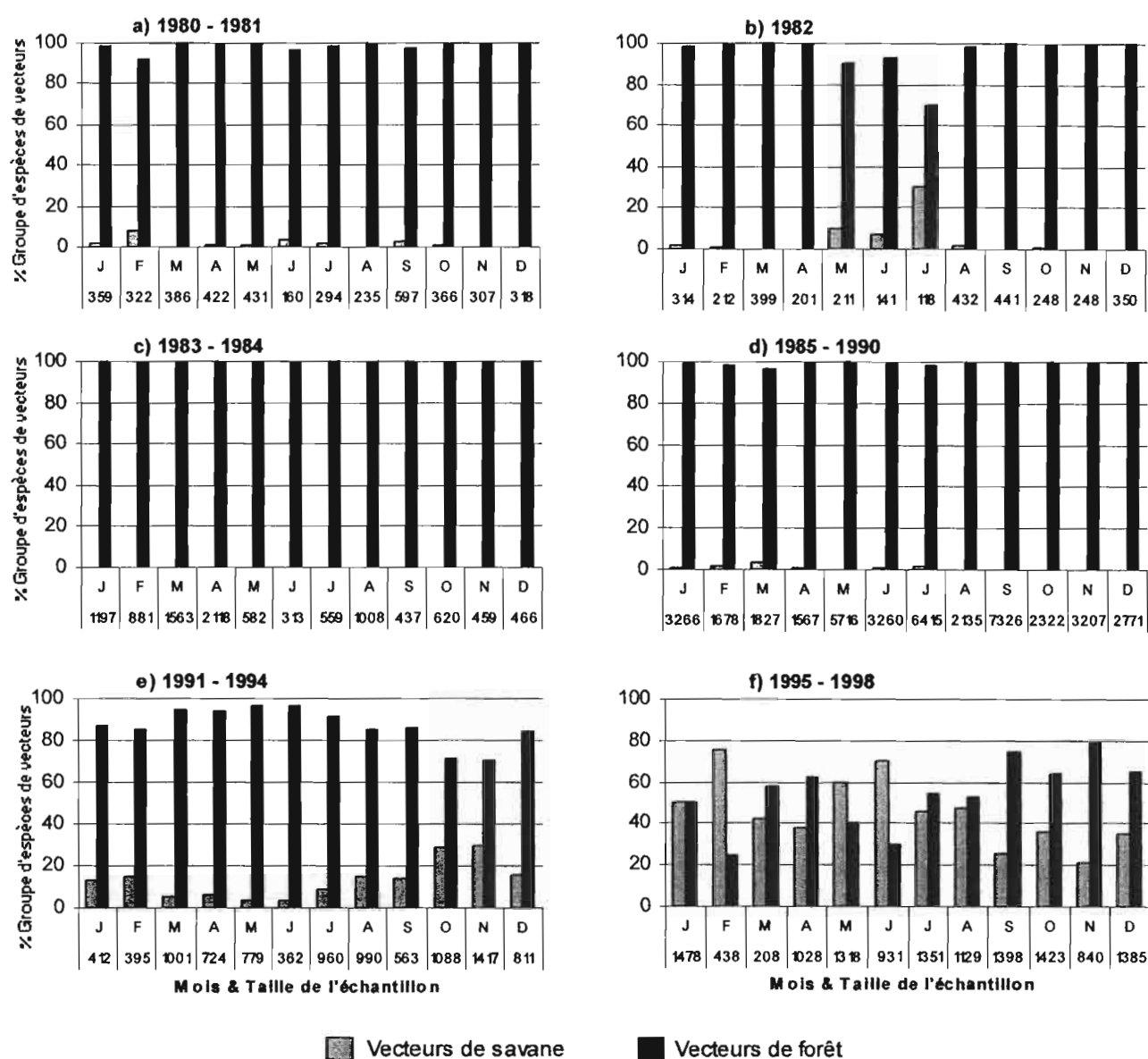
Figures 6 (a & b) : Variations interannuelles de la proportion des femelles savaniques de *S. damnorum s.l.* de 1980 à 1998

	Foyer du bas Bandama	Foyer de la basse Comoé
z (Valeur observée)	185.831	131.621
z (Valeur critique)	1.960	1.960
p-value (bilatérale)	< 0.0001	< 0.0001
alpha	0.05	0.05

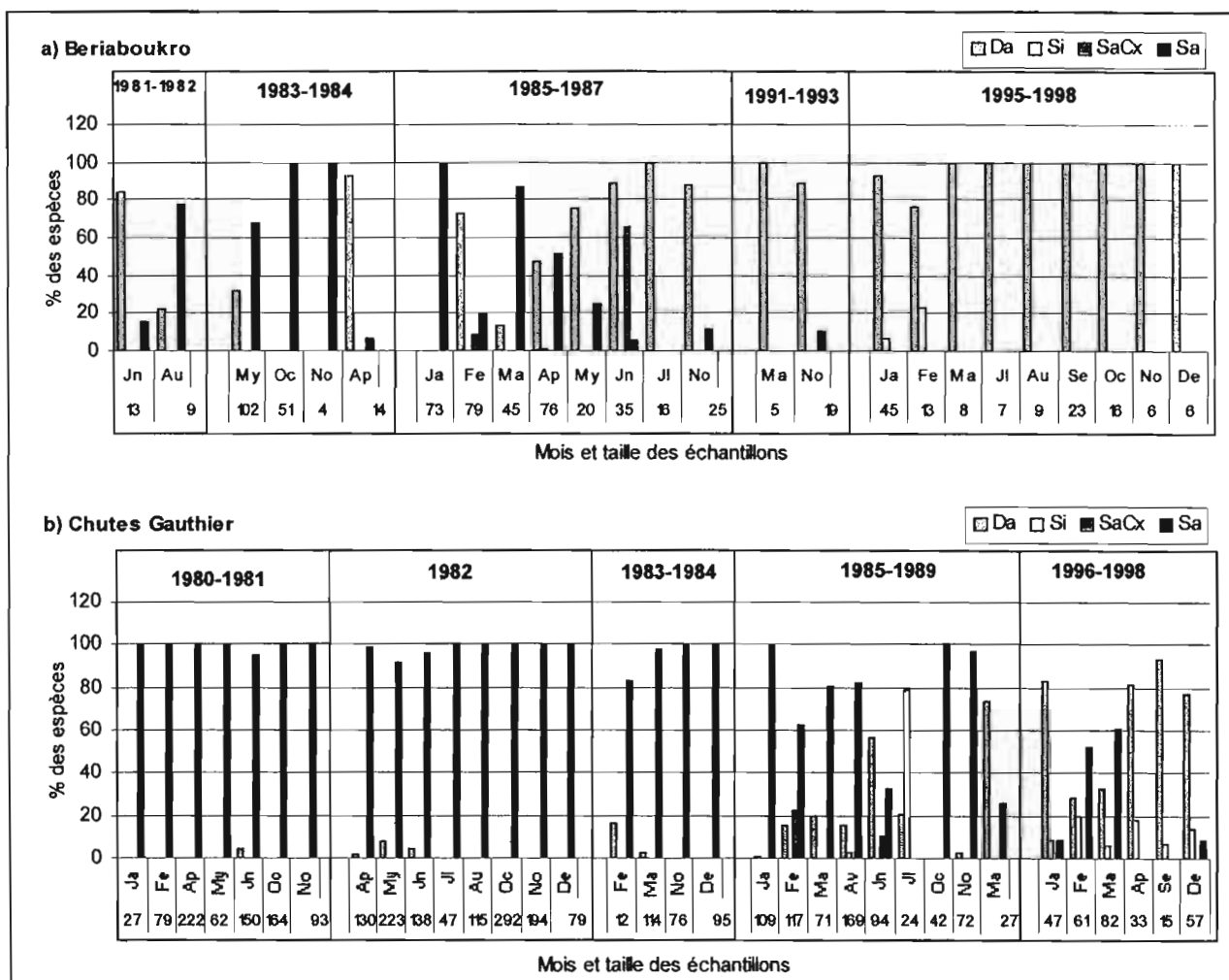
Tableau 1 : Résultats du test de tendance des proportions moyennes des femelles savaniques de *S. damnorum s.l.* dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé



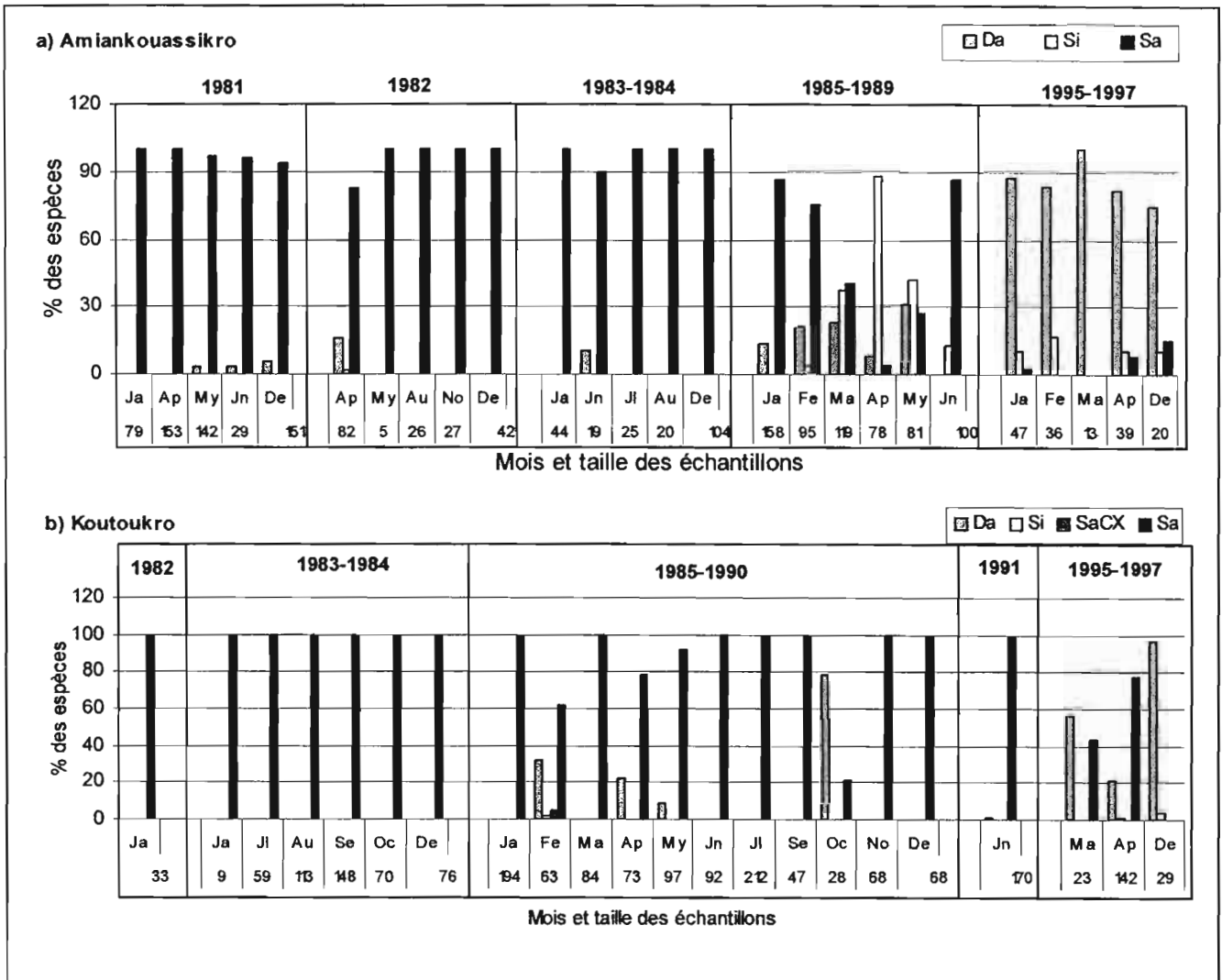
Figures 7 (a-f) : Variations mensuelles des proportions des groupes d'espèces de savane et de forêt de *S. damnosum s.l.* sur le bas Bandama de 1980 à 1998



Figures 8 (a-f): Variations mensuelles des proportions des groupes d'espèces de savane et de forêt de *S. damnosum s.l.* sur la basse Comoé de 1980 à 1998



Figures 9 (a-b) : Evolution des espèces de *S. damnosum* s.l. sur le bas Bandama pendant la période 1980-1998 (Da = *S. damnosum* s.s. ; Si = *S. sirbanum* ; Sa = *S. sanctipauli* ; SaCx = hybride *S. sanctipauli* / *S. soubrense*)



Figures 10 (a-b) : Evolution des espèces de *S. damnosum* s.l. sur la basse Comoé pendant la période 1981-1997 (Da = *S. damnosum* s.s. ; Si = *S. sirbanum* ; Sa = *S. sanctipauli* ; SaCx = hybride *S. sanctipauli* / *S. soubrense*)

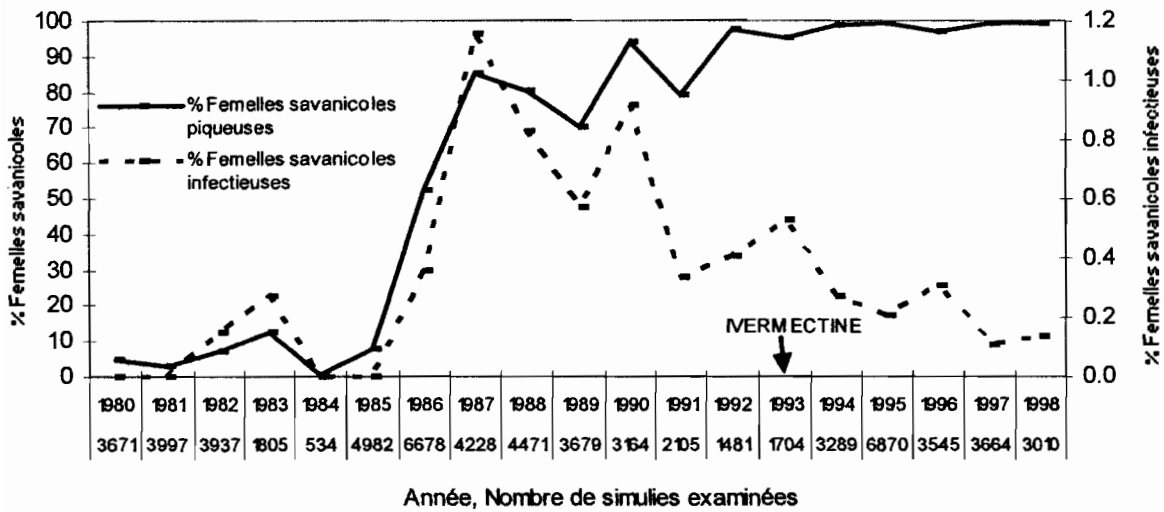


Figure 11 : Evolution des proportions moyennes de femelles savigicoles piqueuses et infectieuses de *S. damnosum s.l.* sur le bas Bandama

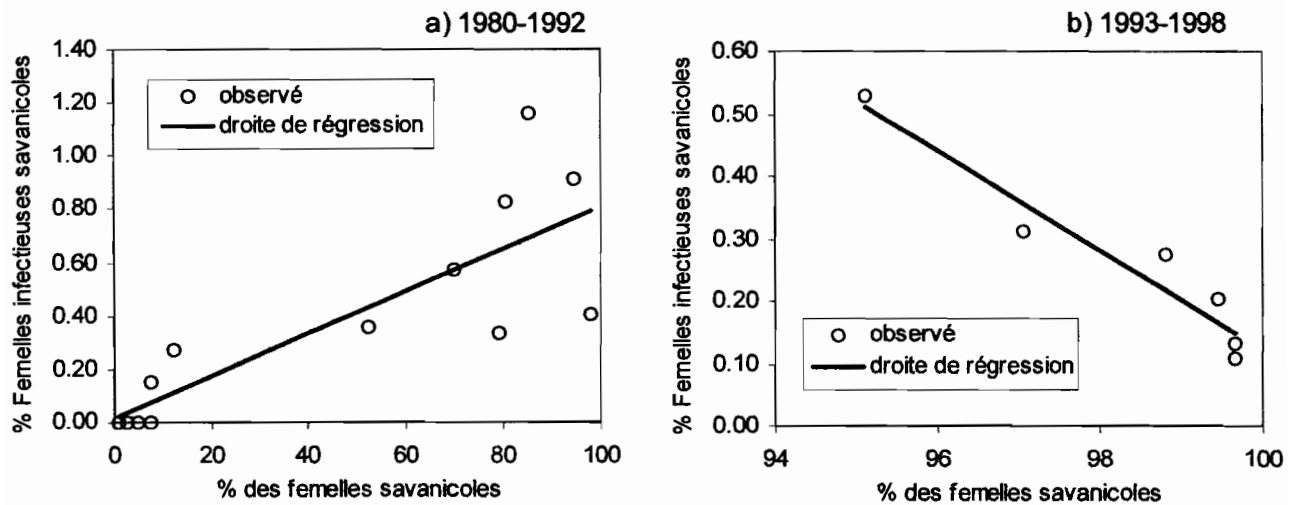


Figure 12 (a & b) : Proportions moyennes de femelles savigicoles infectieuses de *S. damnosum s.l.* en fonction des femelles piqueuses sur le bas Bandama

Chaque point représente le pourcentage moyen annuel des variables étudiées

Période	R ²	ddl	F-statistic	P value
1980-1992	0.683	11	23.66	0.000
1993-1998	0.740	3	8.56	0.061

Tableau 2 : Résultats des tests de régression entre les proportions de femelles savigicoles piqueuses de *S. damnosum s.l.* et celles des infectieuses dans le foyer du bas Bandama

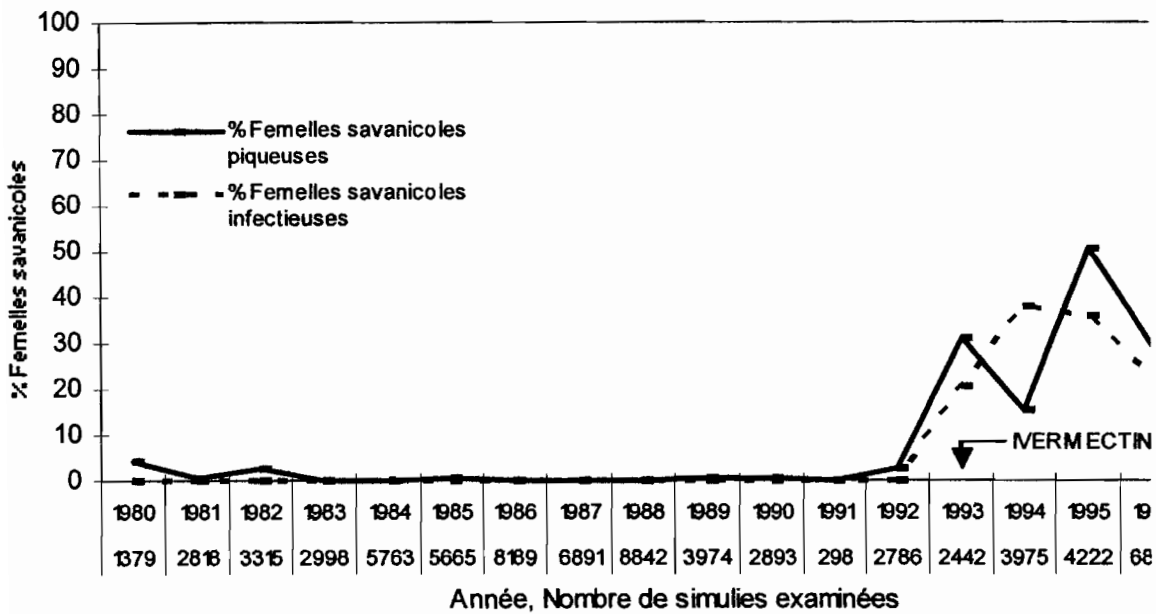


Figure 13 : Evolution des proportions moyennes de femelles savañicoles piqueuses et infectieuses de *S. damnosum s.l.* sur la basse Comoé

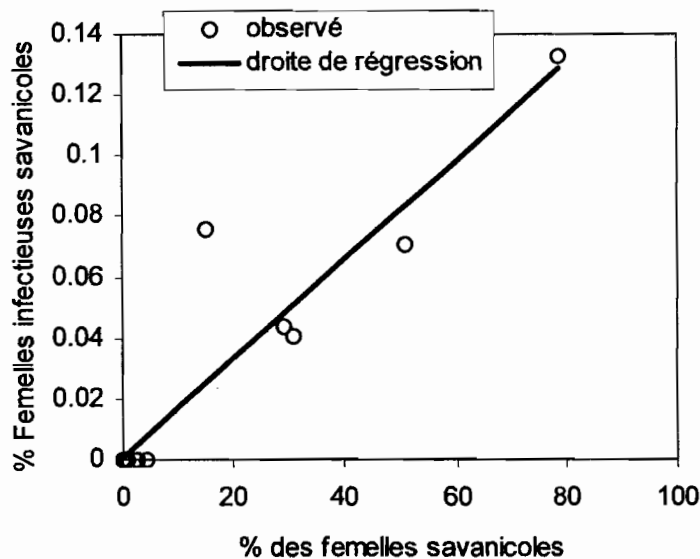
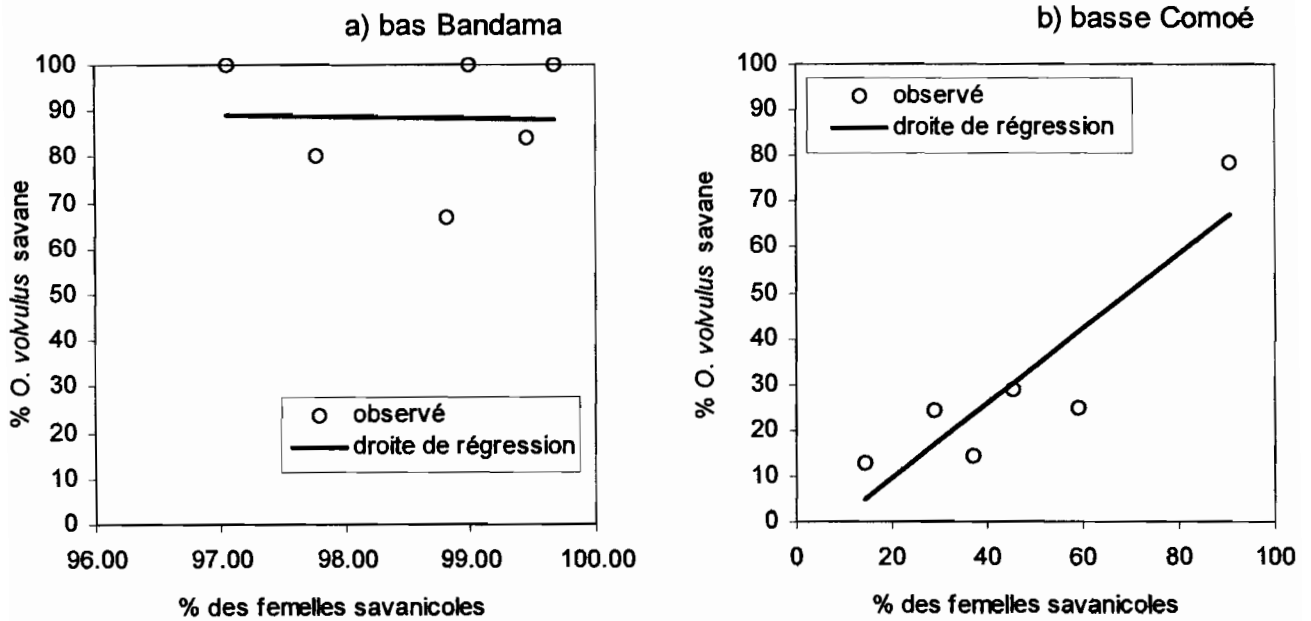


Figure 14 : Proportions moyennes de femelles savañicoles infectieuses de *S. damnosum s.l.* en fonction des femelles piqueuses sur la basse Comoé
Chaque point représente le pourcentage moyen annuel des variables étudiées

Période	R ²	ddl	F-statistic	P value
1980-1997	0.883	16	120.32	0.000

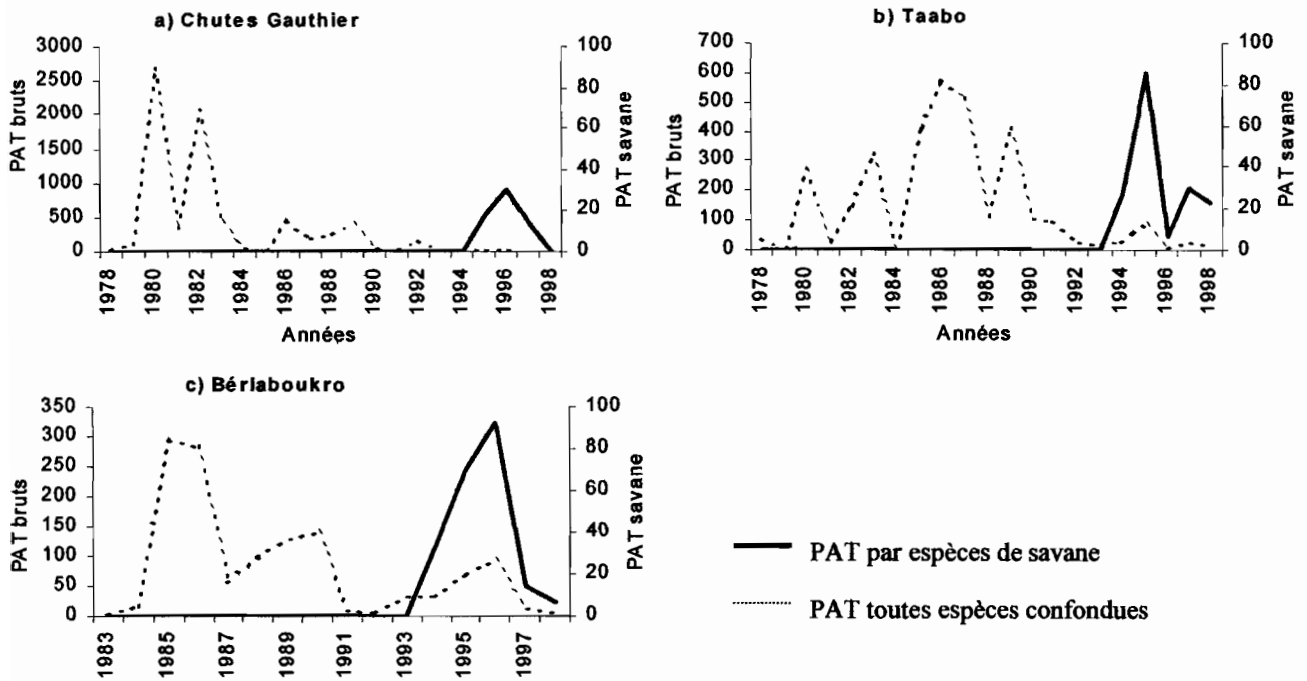
Tableau 3 : Résultat du test de régression entre les proportions de femelles savañicoles piqueuses de *S. damnosum s.l.* et celles des infectieuses dans le foyer de la basse Comoé



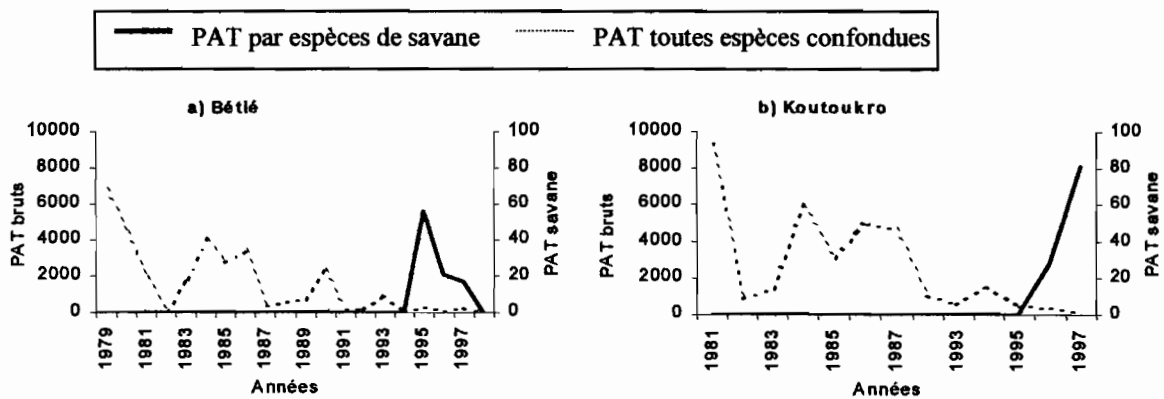
Figures 15 (a & b) : Proportions moyennes annuelles des larves infectantes d'*O. volvulus savane* en fonction des femelles savanicoles piqueuses de *S. damnosum*
Chaque point représente le pourcentage moyen annuel des variables étudiées

Foyer	Période	R ²	ddl	F-statistic	P value
bas Bandama	1993-1998	0.00093	4	0.0037	0.950
basse Comoé	1992-1997	0.790	4	15.36	0.017

Tableau 4 : Résultats des tests de régression entre les proportions de larves infectantes d'*O. volvulus savane* et celles des femelles savanicoles piqueuses de *S. damnosum s.l.*



Figures 16 (a-c) : Evolution des potentiels annuels de transmission dans le bas Bandama pendant la période 1978-1998



Figures 17(a-b) : Evolution des potentiels annuels de transmission sur la basse Comoé pendant la période 1979-1997

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

1. SYNTHESE DES PRINCIPAUX RESULTATS

1.1. Etudes des mouvements migratoires de *S. damnosum s.l.*

1.1.1. Implications épidémiologiques :

Article 1 : Adjami A.G., Toé L., Sanfo M.S., Yaméogo L. & Bissan Y.

Mouvements migratoires de *Simulium damnosum s.l.* sur l'axe Sierra Leone-Guinée-Mali :
Analyse des données entomologiques et parasitologiques de 1977 à 2001. (Soumis).

Les mouvements migratoires sont une des caractéristiques essentielles des espèces de savane (*S. sirbanum* et *S. damnosum s.s.*) du complexe *S. damnosum s.l.* en Afrique de l'Ouest. Au cours de cette étude, nous avons mis en évidence ces mouvements par l'analyse des taux mensuels de piqûre couplés aux indicateurs d'âge physiologique et d'infection, et en relation avec les périodes de traitements insecticides sur l'axe Mali - Guinée - Sierra Leone. Deux types de migrations sont observés : l'un pendant la saison humide avec un maximum au mois de juin, l'autre pendant la saison sèche, surtout marqué au mois de février.

Ces observations confirment les précédentes études sur les mouvements migratoires de *S. damnosum s.l.* en Afrique de l'ouest, qui ont montré qu'en début de saison des pluies, il y a une repopulation de certains foyers traités de l'aire initiale d'OCP par des simules migrantes dans la direction sud-ouest / nord-est, sous l'effet des vents de mousson (Garms et al., 1979 ; Magor & Rosenberg, 1980). De même, il existe en début de saison sèche, un mouvement inverse de migration des simules savaniques (nord-est / sud-ouest) favorisé par les vents de l'Harmattan provenant du Sahel (Bissan et al., 1995).

Dans la présente étude, en plus des données entomologiques relatives à la période des traitements larvicides, celles des périodes de pré- et post-contrôle ont été analysées, de même que les résultats d'identification des parasites collectés sur les simules migrantes, afin de mieux appréhender les risques épidémiologiques liés à ces mouvements migratoires. Il ressort de ces analyses que :

- Pour la migration de mousson, il existe une forte corrélation entre les taux mensuels de piqûre (TMP) et les potentiels mensuels de transmission (PMT) à Madina Diassa (Mali) et Morigbédougou (Guinée). Les pics de PMT observés en ces points, initialement associés à la

migration de mousson, ont été supprimés avec la mise en place des extensions ouest de Guinée et de Sierra Leone associant lutte anti-vectorielle et chimiothérapie de masse.

- Pour la migration d'harmattan, les pics de TMP ne sont pas associés à une augmentation sensible des PMT ; cette migration ne génère donc pas de transmission significative.

L'identification des larves infectantes collectées chez les vecteurs a permis de corriger les indices de transmission. *O. volvulus* représente près de 2/3 des infections trouvées aux points de Musaia (Sierra Leone) et de Morigbédougou, alors qu'à Madina Diassa il ne représente que 10%. Pour ce dernier point, l'étude a montré que la transmission d'*O. volvulus* est principalement associée à la migration de mousson. Ce constat commande qu'une attention particulière soit accordée à la migration de mousson et à ses conséquences épidémiologiques, malgré les bons résultats générés par la lutte anti-vectorielle et la chimiothérapie de masse.

1.1.2. Intérêts pour la surveillance

Article 2 : Adjami A.G., Ravel S., Toé L., Sanfo M.S., Bissan Y., Yaméogo L. & Cuny G.

Spatiotemporal study of genetic variability of *simulium damnosum* s.l. on the axis Sierra Leone - Guinea - Mali . (Soumis).

La disponibilité des outils moléculaires pour l'étude des populations de *S. damnosum* s.l. a permis d'effectuer une étude de la génétique des populations de *S. sirbanum*, principale espèce migrante, sur l'axe de migration Sierra Leone - Guinée - Mali. Cette étude a mis en évidence une similarité génétique entre les populations de *S. sirbanum* analysées ; ceci, quel que soit le niveau de recoupement des populations (mensuel, saisonnier, groupées par point ou sur l'ensemble de l'aire d'étude). Cette similarité génétique est la résultante d'un important flux de gènes entre les populations, favorisant un brassage génétique qui tend à limiter leur différenciation, et confirmant ainsi les études entomologiques sur les mouvements simulidiens.

Cette étude a montré la possibilité de réaliser une analyse fine, au niveau infra-spécifique d'une espèce du complexe *S. damnosum* s.l. Ce type d'analyse devrait pouvoir

servir à une meilleure compréhension des mouvements simulidiens et de la transmission dans le cadre de la surveillance de l'onchocercose.

1.2. Outils diagnostiques pour la surveillance de l'onchocercose

1.2.1. Le test PCR de grattage cutané "PCR skin scratch test"

Article 3 : Toé L., Boatin B.A., Adjami A.G., Back C., Merriweather A. and Unnasch T.R. 1998. Infection by O-150 Polymerase Chain Reaction Analysis of Skin Scratches. 1998. *Journal of Infectious Diseases*. 178 : 282-5.

L'étude a été menée dans le but d'obtenir un test diagnostique de l'onchocercose sensible, spécifique, indolore et non invasif. Cette étude a montré qu'il était possible d'obtenir du matériel biologique d'*O. volvulus* permettant une amplification de la séquence O-150 de son ADN génomique, par simple grattage de la couche superficielle du derme.

Le test diagnostique a montré une sensibilité de 92 % et une spécificité épidémiologique de 100% par rapport à la biopsie cutanée. Cette valeur de sensibilité est proche de celle obtenue avec le test de PCR O-150 réalisé sur les fragments cutanés qui, à l'heure actuelle, est le test diagnostique le plus sensible pour le diagnostic de l'onchocercose. Toutefois à la différence de cette dernière, le test de PCR de grattage cutané ne nécessite pas une biopsie et donc à l'avantage d'être indolore et non invasif. Ces aspects sont importants pour l'acceptation du test par les populations et pour éviter la dissémination de maladies transmissibles par le sang.

Un autre avantage certain des tests diagnostiques basés sur l'amplification de O-150 est qu'ils sont les seuls à pouvoir distinguer les souches de forêt ou de savane d'*O. volvulus* présentes chez le sujet.

L'inconvénient majeur du test développé dans cette étude est son coût relativement élevé, estimé à US \$ 0.80 / test (Nutman et al., 1994).

1.2.2. Le test de pansement à la diéthylcarbamazine (DEC) "DEC patch test"

Article 4 : Toé L., Adjami A.G., Boatin B.A., Back C., Soumbey E.A., Dembélé N., Brika G.P., Pearlman E. and Unnasch T.R. 2000. Topical application of diethylcarbamazine to detect onchocerciasis recrudescence in West Africa. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 94, 519-525.

Les travaux de mise au point du "DEC patch test" s'inscrivent dans le souci de disposer d'un test diagnostique suffisamment sensible et spécifique, non invasif et indolore, et surtout dont le coût est acceptable, pour la surveillance épidémiologique de l'onchocercose comme alternative à la biopsie cutanée exsangue (BCE) classique. Ce test s'adresse préférentiellement aux populations jeunes (enfants et adolescents) nés après le succès des opérations de lutte contre la maladie.

Comparé à la biopsie cutanée, prise comme test de référence, le "DEC patch test" concentré à 10%, a globalement une sensibilité comprise entre 56% et 80%, et une spécificité variable de 80% à 95%. Le test est plus sensible à la lecture de 48 heures que celle de 24 heures. De plus, on observe une forte corrélation entre la BCE et le "DEC patch test" pour le calcul des prévalences. En revanche, il n'y a pas une nette corrélation pour la détermination de l'intensité de la transmission. Comparé au test diagnostic de PCR-O150 des fragments cutanés, la sensibilité du "DEC patch test" baisse à 31% alors que sa spécificité s'en trouve augmentée à 100% après lecture à 24 heures.

Dans le but d'étudier l'influence de la concentration de la diéthylcarbamazine sur l'intensité de la réaction inflammatoire, des individus ont été exposés simultanément au "DEC patch test" à 10% et à 20%. Les résultats montrent que les valeurs de sensibilité du "DEC patch test" à 10% lues à 48 heures (89%) et celles de 20% lues à 24 heures (78%) ne sont pas significativement différentes.

La spécificité d'espèce du "DEC patch test" a été évaluée en Zambie dans une zone endémique à *Mansonella perstans*, sur 6 sujets porteurs de cette filaire. Aucun des sujets n'a présenté une réaction positive au test.

La distribution de masse du Mectizan est la principale stratégie actuellement utilisée pour lutter contre l'onchocercose. Dans le but d'étudier l'effet de ce produit sur la sensibilité et

la spécificité du "DEC patch test" par rapport à la BCE, une étude cohorte a été menée. Les résultats de cette étude montrent que le Mectizan accroît la sensibilité du test qui passe de 78% à 100% onze mois après sa prise. En revanche, la spécificité ne change pas significativement, passant de 72% à 70% respectivement avant et après la prise du produit.

Enfin l'étude a montré que le "DEC patch test" est plus sensible chez les enfants et les adolescents de moins de 16 ans (population sentinelle pour la surveillance de la recrudescence onchocercienne) que chez les individus de plus de 16 ans.

Tous les différents aspects du diagnostic de l'onchocercose abordés dans cette étude, font du "DEC patch test" une excellente alternative à la BCE pour la surveillance de l'onchocercose.

1.3. Changements bioclimatiques et onchocercose

1.3.1. Le bassin fluvial du Bandama en Côte d'Ivoire

Article 5: Adjami AG, Toe L, Bissan Y, Bugri S, Yameogo L, Kone M, Katholi CR, Unnasch TR. 2004. The current status of onchocerciasis in the forest/savanna transition zone of Cote d'Ivoire. *Parasitology* 128(Pt 4):407-14.

L'étude rapporte les résultats des travaux d'identifications des vecteurs et des parasites de l'onchocercose, menés dans le but de mieux comprendre les relations vecteurs / parasites dans une zone de transition forêt / savane en Côte d'Ivoire. L'étude a été réalisée sur le bassin fluvial du Bandama, en zones de savane (haut Bandama) et de forêt dégradée (moyen Bandama). Les résultats montrent que les espèces forestières de *S. damnosum s.l.*, bien que présentes en toutes saisons sur le haut Bandama, sont en proportions très faibles (2% et 4% respectivement en saison sèche et en saison humide). Cette situation est quasi-similaire sur le moyen Bandama où les proportions des femelles forestières sont à peine plus élevées que sur le haut Bandama (4% et 11% respectivement en saison sèche et en saison humide). Ceci montre que les espèces de savane de *S. damnosum s.l.* sont largement prédominantes dans ces deux zones bioclimatiques.

L'identification des larves infectantes prélevées chez le vecteur montre que *O. volvulus* représente 89% et 69% des larves infectantes respectivement sur le moyen et le haut

Bandama. De ces résultats, on déduit qu'en plus d'*O. volvulus*, une proportion non négligeable d'onchocerques d'origine animale est inoculée à la population humaine lors de la piqure des simules. Les conséquences épidémiologiques d'un tel phénomène restent à étudier.

L'identification des souches d'*O. volvulus* montre que, sur le haut Bandama, 100% des microfilaires prélevées sur les patients et 99% des larves d'*O. volvulus* appartiennent à la souche savane (souche cécitante). En revanche, sur le moyen Bandama, 33% des larves infectantes d'*O. volvulus* collectées chez le vecteur appartiennent à la souche moins cécitante, et 67% à la souche cécitante. Dans ce dernier foyer, si la proportion des larves de la souche moins cécitante n'est pas significativement différente chez les vecteurs de forêt et chez ceux de savane (33% et 19% respectivement), en revanche la répartition de cette souche diffère significativement dans les populations humaines et vectorielles (67% et 21% respectivement).

Ces données mettent en évidence les risques d'extension de l'onchocercose cécitante et l'importance à accorder à ce phénomène dans le cadre de la surveillance de l'onchocercose.

1.3.2. Les foyers de la basse Comoé et du bas Bandama en Côte d'Ivoire

Adjami AG, Toe L, Sanfo M.S., Aké F., N'guessan K.E. Dibi H. Bissan Y, Yameogo L.
 Changements bioclimatiques et onchocercose :
 cas des foyers du bas Bandama et de la basse Comoé en Côte d'Ivoire (Soumis).

L'étude a été menée dans le but de mieux comprendre l'évolution des populations de vecteurs et de parasites de l'onchocercose dans les zones de transition forêt / savane, par l'analyse de séries chronologiques de données d'identifications de vecteurs et de parasites ainsi que des indicateurs de transmission d'une part, et celles de pluviométrie et de végétation d'autre part.

Cette étude de chrono-distribution des espèces de *S. damnosum s.l.* a montré une augmentation statistiquement significative de la proportion des femelles savaniques aboutissant à leurs nettes prédominances dans les deux foyers. L'étude attribue ce phénomène aux modifications bioclimatiques, mises en évidence par une baisse de la pluviométrie couplée à une régression du couvert végétal. Du point de vue de la transmission, l'analyse des données a montré que la densité des femelles savaniques infectieuses et la transmission de la souche de savane d'*O. volvulus*, croissent proportionnellement à l'augmentation des femelles

savanicoles piqueuses. L'introduction de l'ivermectine dans le foyer du bas Bandama a permis de maîtriser la transmission du parasite par les populations savanicoles. A l'opposé, dans celui de la basse Comoé les résultats escomptés ne semble pas avoir été atteints, probablement à cause d'une mauvaise couverture géographique et thérapeutique du TIDC, accentuant le risque d'endémisation de l'onchocercose cécitante.

L'étude conclut par conséquent à la nécessité d'intégrer le risque d'évolution du faciès épidémiologique dans les stratégies de surveillance de l'onchocercose et propose à cet effet un renforcement de la distribution de l'ivermectine sous directive communautaire dans les foyers en cours de « savanisation ».

2. PERSPECTIVES

2.1. Détermination des sources de migration des vecteurs simulidiens

Nous l'avons vu, les mouvements migratoires de simules peuvent avoir de graves conséquences épidémiologiques par la réintroduction de parasites dans les foyers assainis ou en cours d'extinction. Ils constituent de ce fait, l'un des obstacles à l'élimination de l'onchocercose dans la majeure partie des foyers africains (Dadzie et al., 2003). Si l'on ne peut empêcher l'insecte de migrer, ce processus étant lié à sa biologie intime (Statzner et al, 2001 ; Murata & Tojo, 2004), les efforts doivent s'orienter vers une connaissance parfaite de ce phénomène afin de proposer des stratégies de lutte ou de surveillance appropriée. La détermination des sources de migration rentre dans ce cadre.

Il apparaît extrêmement difficile de détecter un phénomène migratoire en conditions naturelles chez les insectes. D'une manière générale, les flux migratoires ou de dispersion peuvent être analysés si les individus sont facilement identifiables, par des méthodes de capture-marquage-relargage-recapture. Cette approche n'a pas donné de bons résultats dans les études de migration des simules car les pourcentages de re-capture des mouches ne dépassaient pas 0,002% (Thompson et al., 1972). A l'OCP, l'origine des simules migrantes a été déterminée de façon empirique par des traitements successifs des cours d'eau situés au sud et au sud-est des principaux gîtes simulidiens concernés par le phénomène de réinvasion et au recours des techniques morphométriques pour l'identification des femelles migrantes. Ces dernières techniques, bien qu'indispensables pour l'identification des femelles de simules au niveau de l'espèce, ne sont pas suffisamment sensibles pour distinguer des populations

appartenant à une même espèce. A l'heure actuelle, les traitements larvicides à grande échelle comme ce fût le cas à l'OCP ne sont plus d'actualité. De plus, le recours à une telle stratégie est très peu probable compte tenu du coût des opérations.

La surveillance entomologique est une composante essentielle du dispositif global de la surveillance de la recrudescence de l'onchocercose, car il avait été démontré qu'à la cessation des activités de lutte anti-vectorielle, la densité des espèces sавanicoles retrouverait rapidement leur niveau de pré-contrôle (Davies, 1981). Cette surveillance entomologique est basée sur le "pool screening", une méthode sensible de détection d'*O. volvulus* par PCR dans les broyats de simulies (Katholi et al., 1995 ; Yameogo et al., 1999). Cependant, la méthode ne permet pas de déterminer la provenance des simulies infectieuses capturées en un point donné, aspect fondamental pourtant pour une riposte efficace et mieux ciblée. Dans ce contexte, les marqueurs microsatellites développés pour l'étude des mouvements migratoires de *S. damnosum s.l.* sont d'un intérêt certain, l'origine des migrations pouvant être déterminée par la comparaison de la structure génétique des populations de simulies issues des sources potentielles de celles des zones ré-envahies.

2.2. Quel test diagnostique pour la surveillance de l'onchocercose ?

La disponibilité d'un test diagnostique efficace est fondamentale pour les programmes de lutte ou de surveillance de l'onchocercose. Ces tests doivent être adaptés au contexte épidémiologique, qu'il s'agisse d'une surveillance primaire pour la définition des niveaux d'endémicité (ou la cartographie), l'évaluation des impacts de lutte, la certification ou la surveillance post-éradication. L'outil qui apparaît efficace dans l'un de ces contextes ne l'est pas à priori dans un autre.

L'onchocercose n'est plus un problème de santé publique dans la plupart des pays de l'Afrique de l'ouest. Les prévalences de la maladie, de même que les charges parasitaires individuelles, sont à un niveau très faible. Toutefois, les cas d'association filarienne dans les populations humaines sont parfois fréquents. Dans ce contexte épidémiologique, les tests diagnostiques à utiliser pour la surveillance post-OCP doivent répondre aux critères de sensibilité mais surtout de spécificité élevés.

Plusieurs tests ont été développés pour le diagnostic de l'onchocercose :

- Les examens cliniques à visée diagnostique (peau, nodules, etc.) ne sont pas suffisamment sensibles dans le contexte épidémiologique actuel. De plus, les signes cliniques de la pathologie onchocerquienne ne sont pas un bon indicateur d'une transmission.

- La BCE : même si elle est le test diagnostique de référence de l'onchocercose, force est de reconnaître qu'elle n'est pas suffisamment sensible pour les faibles charges parasitaires et inefficace pour la détection des cas prépatents. De plus, ce test est douloureux et peut être invasif ce qui le rend moins acceptable par les populations.

- Les tests immunologiques : La plupart sont basés sur la recherche d'anticorps sériques spécifiques. Des progrès ont été réalisés dans ce domaine avec des tests associant des cocktails d'antigènes pour accroître les valeurs de sensibilité et de spécificité. Ces tests ont l'avantage de détecter les cas prépatents. Toutefois ils ne peuvent différencier les anciens cas des nouveaux, aspects pourtant importants pour mieux suivre la régression de la maladie. Les tests basés sur la recherche d'antigène sériques spécifiques pourraient résoudre ce problème. Les travaux récemment effectués dans ce sens (Ayong et al., 2005) semblent prometteurs et sont à encourager.

Nous proposons dans cette étude, deux tests pour la surveillance de l'onchocercose dans le contexte épidémiologique actuel, la PCR O-150 de grattage cutané et le « DEC patch test » :

○ Pour la PCR de grattage cutané, il nous semble important de mener des investigations supplémentaires pour déterminer le temps d'élimination du parasite (voire de son ADN) de l'organisme après qu'il ait été tué, dans le but de discriminer les infections nouvellement contractées des anciennes.

○ Il est également nécessaire, pour la surveillance de la recrudescence de l'onchocercose, d'étudier la possibilité d'utilisation de ce test sur des lots de plusieurs échantillons (méthode de "pool screening"). Ceci permettrait de ramener le rapport coût efficacité du test à des proportions plus raisonnables.

○ Pour le « DEC patch test », il importe de mener des investigations supplémentaires

pour déterminer la spécificité d'espèce. L'étude menée dans cette optique en Zambie a montré que *Mansonella perstans* ne réagit pas au test. Des études similaires doivent être menées sur des patients avérés porteurs de *Mansonella streptocerca* ou *Mansonella ozzardi*.

Pour une standardisation de la méthode, il importe également de faire un prototype standard. Des travaux sont en cours dans ce sens.

De ce qui précède, un seul test diagnostique ne peut à l'heure actuelle, assurer une surveillance efficace de la maladie. Nous estimons qu'il sera nécessaire d'associer plusieurs tests à cet effet.

2.3. Nécessité d'une identification plus fine d'*O. volvulus*

Nous l'avons vu, le polymorphisme génétique d'*O. volvulus* a été mis en évidence par des séquences d'ADN satellites du génome nucléaire. Ces séquences constituent une famille d'environ 150 paires de base, non codante, spécifique du genre *Onchocerca* et dénommée "O-150". Les variations génétiques observées au niveau de "O-150" ont été mises à profit pour développer des sondes d'ADN permettant une identification précise des espèces d'onchocercques ; au sein d'*O. volvulus*, elles permettent de caractériser des souches (Unnasch & Meredith, 1996). Toutefois, ces marqueurs n'ont pas un mode de transmission de type mendélien, ce qui les rend inefficaces pour étudier la variabilité génétique de l'espèce.

De plus, les séquences "O-150" ne sont pas impliquées dans un processus de pathogénie (Zimmerman et al., 1992) et les sondes qui en dérivent n'identifient pas un facteur de virulence ou de pathogénie chez le parasite. Elles permettent l'identification de souches parasitaires provenant de foyers épidémiologiquement différents, le phénotype "virulence" étant déduit à posteriori selon le faciès épidémiologique du foyer d'origine du parasite.

Les identifications routinières des parasites collectés dans l'aire de l'OCP avec les sondes spécifiques de souches ont montré la difficulté qu'il y a à interpréter certaines données, notamment la valeur pathogénique des échantillons de microfilaires identifiées comme souche de savane dans des communautés présentant une onchocercose de forêt ou de statuer sur le potentiel pathogène des parasites ne pouvant être identifiés ni comme de la souche de forêt, ni de la souche de savane. Ce type d'échantillons se rencontre surtout dans les zones de déforestation.

Les travaux portant sur d'autres marqueurs ont montré que le degré de variabilité génétique au sein d'*O. volvulus* est très faible. L'étude du polymorphisme des gènes de l'actine d'*O. volvulus*, (Zeng & Donelson, 1992), comparant les séquences des gènes de parasites collectés au Cameroun et au Mali, a trouvé un seul nucléotide qui présente un polymorphisme détectable. Dans cette même étude, la recherche d'un polymorphisme au niveau des sites de restriction avec des sondes dérivant des gènes de l'actine, chez des parasites issues de quatre aires géographiques différentes, n'a montré aucune variation génétique détectable. Plus récemment, une étude a comparé les clones d'ADNc des souches de savane et de forêt d'*O. volvulus* pour mettre en évidence un hypothétique polymorphisme des antigènes qui sont soit impliqués dans l'induction de la pathogénie oculaire, soit généralement reconnus par le système immunitaire de l'hôte (Keddie et al., 1999). Aucun polymorphisme n'a été mis en évidence dans la séquence en acides aminés des antigènes. Cette étude, étendue à l'examen du degré de diversité génétique dans le génome mitochondrial d' *O. volvulus*, par l'utilisation combinée de la PCR-RFLP et du séquençage direct du domaine "AT" (région hyper-variable) (Keddie et al., 1999), a aussi montré que ce génome extranucléaire présente un très faible niveau de variation génétique entre des parasites issus de foyers géographiques distincts situés en Afrique de l'Est et de l'Ouest et en Amérique du Sud (Keddie et al., 1999). Les auteurs de cette étude concluent que le degré d'hétérogénéité génétique au niveau des régions codantes des génomes nucléaire et mitochondrial d'*O. volvulus* est extrêmement faible (Keddie et al., 1999).

Dernièrement, des travaux ont mis en évidence chez certaines filaires, dont *O. volvulus*, une bactérie endosymbionte du genre *Wolbachia* (Taylor & Hoerauf, 1999). *O. volvulus* possède en conséquence trois génomes distincts : le génome nucléaire, le génome mitochondrial et le génome de *Wolbachia* (Unnasch & Williams, 2000). Depuis la découverte de l'implication de *Wolbachia* dans la fécondité des filaires (Hoerauf et al., 1999 ; Bandi et al., 1999), et de son rôle majeur dans la pathogenèse de l'onchocercose (Saint André et al., 2002 ; Viney, 2002), l'intérêt pour cette bactérie ne cesse de croître, car elle constitue une cible pour de nouvelles stratégies chimiothérapeutiques (Hoerauf et al., 2003). D'autre part, *Wolbachia* offre de nouvelles voies de recherche sur les facteurs de virulence, et les interactions entre le parasite et l'hôte humain, mais également entre le parasite et la simule. Ces travaux devraient aider à comprendre l'épidémiologie de la maladie dans les zones de transition forêt / savane, et à mieux la contrôler.

3. CONCLUSIONS

Structure et migration des simulies pourraient avoir des conséquences encore plus importantes en santé publique si le phénomène décrit sur le Bandama et la basse Comoé (colonisation des gîtes anciennement de type forêt par un système de transmission de type savane) se généralise au niveau des régions tropicales humides (cas observé en Sierra Leone avec une onchocercose de type sévère intermédiaire en zone de forêt). Une conséquence probable sera la transformation des systèmes de transmission de type forêt en type savane (et donc un risque accru pour l'onchocercose cécitante). Ce phénomène pourrait être maintenu à la faveur des vents dominants (mousson et harmattan) et des mouvements des populations humaines (accentués par des déplacements massifs consécutifs aux troubles socio-politiques dans la région) si la surveillance et les traitements à l'ivermectine ne sont pas assurés dans l'ensemble de la région.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adjanohoun E. 1964. Végétation des savanes et des rochers découverts en Côte d'Ivoire centrale. *Mémoires ORSTOM*, 7. Paris.

Anonyme, 1973. Accord cadre pour le programme de lutte contre l'onchocercose dans la région du Bassin de la Volta. 1^{er} novembre 1973.

Anonyme, 1977. Critères biomédicaux pour le repeuplement de l'aire du programme de lutte contre l'onchocercose dans le bassin de la Volta. Rapport d'un groupe de travail 6-8 juin 1977 à Genève. *OCP/SAP/77.1*

Anonyme, 1987. Comité d'expert de l'OMS de l'onchocercose. Troisième rapport. *Série de rapports techniques*, n° 752. *Organisation mondiale de la santé*, Genève.

Anonyme 1993. *Réunion annuelle de revue technique interne*, OCP/ 22-26 Mars 1993

Anonyme, 1995. L'onchocercose et la lutte anti-onchocerquienne. Rapport d'un comité OMS d'experts de la lutte anti-onchocerquienne. *OMS, Série de rapports techniques*, n° 852 *Organisation mondiale de la santé*, Genève.

Anonyme 1998a. Institut National de la Statistique. Recensement Générale de la population et de l'Habitat. Abidjan, Côte d'Ivoire.

Anonyme 1998b. *Rapport de la réunion sur les recherches opérationnelles et stratégies/OCP*, 1998

Ayong L.S., Tume C.B. Wembe F.E., Simo G., Asonganyi T., Lando G., Ngu J.L. 2005. Developpemnt and evaluation of an antigen dtection dpstick assay for the diagnosis of human onchocerciasis. *Tropical Medicine & International Health* 10 (3), 228-235.

Aziz M.A., Diallo S., Diop Mar I., Larivière M., Porta M. 1982. Efficacy and tolerance of ivermectin in human onchocerciasis. *Lancet*, 2, 171-173.

Bain O. 1969. Morphologie des stades larvaires d'*Onchocerca volvulus* chez *Simulium damnosum* et redescription de la microfilaire. *Annales de Parasitology* (Paris),I. 44. n°1, pp. 69-82.

Bain, O. et Philippon, B. 1969. Mécanisme du passage des microfilaires à travers les parois stomacales du vecteur ; son importance dans la transmission de l'onchocercose. *C. R. Acad. Sciences Paris*, sér. D, 269 (12), 1081-1083.

Baker, R.H., Guillet, P., Seketeli, A., Poudiougou, P., Boakye, D., Wilson, M.D. and Bissan, Y. 1990. Progress in controlling the reinvasion of windborne vectors into the western area of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 328(1251):731-47, discussion 747-50.

Bandi C, McCall JW, Genchi C et al. 1999. Effects of tetracycline on the filarial worms *Brugia pahandi* and *Dirofilaria immitis* and their bacterial endosymbionts *Wolbachia*. *International Journal for Parasitology*. 29:357-64.

Bellec C. & Hébrard G., 1980. Les lieux de repos des adultes du complexe *Simulium damnosum*. 2. Etude de la dispersion spatiotemporelle. Cahiers ORSTOM sér. Ent. Méd.Parasit., 18 (3), 277-289

Bellec, C., Hébrard, G., (1984). Etat physiologique, identité spécifique et chronologie de l'apparition des adultes du complexe *Simulium damnosum* participant d'une réinvasion dans une zone de programme de lutte contre l'onchocercose dans le bassin de la Volta. *Cahier ORSTOM, Sér. Ent. Méd. Parasitol.*, 22 (1), 55-57.

Bissan Y, Hougard JM, Doucoure K, Akpoboua A, Back C, Poudiougou P, Sib AP, Coulibaly Y, Guillet P, Sesay I and Quillévéré. 1995. Drastic reduction of populations of *Simulium sirbanum* (Diptera: Simuliidae) in central Sierra Leone after 5 years of larviciding operations by the Onchocerciasis Control Programme. *Ann Trop Med Parasitol.* 89, N°1, 63-72.

Bissan Y., Vingtain P., Doucoure K., Doumbo O., Dembele D., Ginoux, J., Cozettes, P. et Ranque P., 1986. L'ivermectine (MK-933) dans le traitement de l'onchocercose, son incidence sur la transmission d'*Onchocerca volvulus* en savane soudanienne au Mali. *Médecine d'Afrique Noire*, 33, 2, 81-93.

Boatin BA. 2003. The current state of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Tropical Doctor*, 33, 209-214.

Boatin BA, Toe L, Alley ES, Dembele N, Weiss N, Dadzie KY. 1998. Diagnostics in onchocerciasis: future challenges. *Ann Trop Med Parasitol.* 92 Suppl 1:S41-5.

Boatin, B., Molyneux, D.H., Hougard, J.M., Christensen, O.W., Alley, E.S., Yameogo, L., Seketeli, A. and Dadzie, K.Y. 1997. Patterns of epidemiology and control of onchocerciasis in West Africa. *Journal of Helminthology.* 71, 91-101

Boussinesq M., 1991. Etude épidémiologique de l'onchocercose en zone de savane camerounaise. Effets d'un traitement de masse pour l'ivermectine. Thèse Parasitologie, Université Montpellier II, 426p.

Boussinesq M., 1997. L'onchocercose humaine en Afrique. *Med. Trop.* 57 : 389-400.

Boussinesq M., 1998. Contribution du Mectizan® à la transmission de l'onchocercose : impact sur la transmission après huit années de traitement. *Cahiers Santé* ; 8 : 20-24

Bradley JE, Trenholme KR, Gillespie AJ, et al. 1993. A sensitive serodiagnostic test for onchocerciasis using a cocktail of recombinant antigens. *American journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 48, 198-204.

Budden, F.H., 1963. Comparative study of ocular onchocerciasis in savannah and rain forest. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 57, 1, 64-70.

Buck A.A., 1974. Onchocerciasis. Symptomatology, pathology, diagnosis. *OMS ed.*, 80p.

Cianchi R., Karam M., Henry M.C., Villani F., Kumlien S., Bullini L. 1985. Preliminary data on the genetic differentiation of *Onchocerca volvulus* in Africa (Nematoda: Filarioidea) *Acta tropica*, 42, 341-351.

Chandrashekar R, Ogunrinade AF, Weil GJ. 1996. Use of recombinant *Onchocerca volvulus* antigens for diagnostic and surveillance of human onchocerciasis. *Tropical of medicine Int. Health*; 1: 575-580.

Coulaud, J. P., Larivière, M., Gervais, M. C., Gaxotte, P., Aziz, M. A., Dedoul, A. M. & Cenac, J. (1983). Traitement de l'onchocercose humaine par l'ivermectine. *Bulletin société pathologie exotique*, 76, 681-688.

Crosskey R.W. 1990. The natural history of blackflies. *John Wiley & Sons Ed., Chichester, England*. 711pp.

Cupp EW, Bernardo MJ, Kiszewski AE, Collins RC, Taylor HR, Aziz MA, Greene BM. R 1986. The effects of ivermectin on transmission of *Onchocerca volvulus*. *Science* 14 ; 231 (4739) : 740-2.

Cupp EW, Ochoa AO, Collins RC, Ramberg FR, Zea G. 1989. The effect of multiple ivermectin treatments on infection of *Simulium ochraceum* with *Onchocerca volvulus*. *Am J Trop Med Hyg.* 40 (5) : 501-6.

Cupp EW, Ochoa JO, Collins RC, Cupp MS, Gonzales-Peralta C, Castro J, Zea-Flores G. 1992. The effects of repetitive community-wide ivermectin treatment on transmission of *Onchocerca volvulus* in Guatemala. *Am J Trop Med Hyg.* 47 (2) : 170-80.

Dadzie K.Y. Remme J., Baker R.H.A., Rolland A., Thylefors B. 1990. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. III. West African rainforest foci of the vector *Simulium sanctipauli*. *Trop med parasitol.* (41) 376-382.

Dadzie K.Y. Remme J., Rolland A., Thylefors B. 1989. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. II. West African rainforest foci of the vector *Simulium yahense*. *Trop med parasit.* (40) Trosuppl.3 1-7.

Dadzie K.Y., De Sole G., Remme J., 1992. Ocular onchocerciasis and the intensity of infection in the community.IV. The degraded forest of Sierra Leone. *Trop. Med. Parasitol.* 43 : 75-79.

Dadzie K.Y. Remme J., Rolland A., Thylefors B. 1989. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. II. West African rainforest foci of the vector *Simulium yahense*. *Trop med parasit.* (40) Trosuppl.3 1-7.

Dadzie Y., Neira M. and Hopkins D. 2003. Final report of the conference on the eradicability of onchocerciasis. *Filarial Journal* 2 : 2.

Davies JB, Seketeli A, Walsh JF, Barro T, Sawadogo R. 1981. Studies on biting *Simulium damnosum* s.l. at a breeding site in the Onchocerciasis Control Programme area during and after an interruption of insecticidal treatments. *Tropenmed Parasitol.* 32 (1) : 17-24.

Donfack J., Ngu J.L., Lando G., Zimmerman P.A., Nutman J., Same-Ekobonb A. 1999. Variations sous contrôle génétique de l'infection onchocerquienne en fonction du profil clinique dans les foyers endémiques du Cameroun. *Bull soc pathol exot* 92, 2, 85-90

Dover, G. A. 1982. Molecular drive: A cohesive mode of species evolution. *Nature* 299: 111-117.

Duke, B.O.L. 1980. Observations on *Onchocerca volvulus* in experimentally infected chimpanzees. *Tropenmed. Parasit.*, 31, 41-54.

Duke, B.O.L., et Anderson, J. 1972. A Comparison of the lesions produced in the cornea of the rabbit eye by microfilariae of the forest and savanna strains of *Onchocerca volvulus* from the Cameroon. I. The clinical picture. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 23, 4, 354-368.

Duke, B.O.L., Lewis J.D., Moore P.J. (1966). *Onchocerca* - *Simulium* complexes 1. Transmission of forest and Sudan-savanna strain of *Onchocerca volvulus* from Cameroon by *Simulium damnosum* from various west-African bio-climatic zones. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 60, 3, 318-336.

Duke, B.O.L.1990. Onchocerciasis (River Blindness)- can it be eradicated ? *Parasitology today*, 6, n°3 82-84.

Erttmann KD, Unnasch TR, Greene BM, Albiez EJ, Boateng J, Denke AM, Ferraroni JJ, Karam M, Schulz-Key H, Williams PN. 1987. A DNA sequence specific for forest form *Onchocerca volvulus*. *Nature*. 327:415-7.

Erttman K.D., Meredith S.E.O., Greene B.M., Unnasch T.R., 1990. Isolation and characterisation of form specific DNA sequences of *O.volvulus*. *Acta Leiden* 59 :253-260.

FAO. 1993. Evaluation des ressources forestières 1990 – pays tropicaux. Etude FAO : Forêts n°112. Rome.

Fetting C.T. 1998. Mectizan® (ivermectine, MSD) - 1987-1997. *Cahiers Santé*. 8:8.

Garms R, 1985. Morphological differentiation from *Onchocerca volvulus* of first stage larvae of an unknown filarial species commonly found in *Simulium sanctipauli* s.l. in Liberia. *Trop Med Parasitol* 36 : 255-256.

Garms R., Cheke R.A., Sachs R., 1991. A temporary focus of savanna species of the *Simulium damnosum* complex in the forest zone of Liberia. *Trop. Med. Parasitol.* 42, 181-187.

Garms, R., Walsh, J.F. & Davies, J.B., 1979. Studies on the reinvasion of the Onchocerciasis Control Programme in the Volta river basin by *Simulium damnosum* s.l. with emphasis on the south-western areas. *Tropenmedizin und Parasitologie* 30, 345-362.

Gary J. Weil, Cathy Steel, Fanya Liftis, Ben-Wen Li, Gillian Mearns, Edgar Lobos, and Thomas B. Nutman. 2000. A Rapid-Format Antibody Card Test for Diagnosis of Onchocerciasis. *The Journal of Infectious Diseases*; 182:1796-9.

Gaxotte Philippe. 1998. L'onchocercose et le programme Mectizan®. *Cahiers Santé* ; 8 : 9-11.

Habbema, J.D.F., Alley, E.S., Plaisier, A.P., van Oortmarssen, G.J., Remme, J.H.F. 1992. Epidemiological modelling for onchocerciasis control. *Parasitology Today*. 8: 99-103.

Hoerauf A, Nissen-Pahle K, Schmetz C et al. 1999. Tetracycline therapy targets intracellular bacteria in the filarial nematode *Litomosoides sigmodontis* and results in filarial infertility. *Journal of clinical investigations* 103:11-17.

Hilary A. Flockart, R.E. Cibulskis, M. Karam et E.J. Albiez. 1986. *Onchocerca volvulus* : enzyme polymorphism in the relation of Forest and Savannah strains of This parasite. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **80**, 285-292.

Hills, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **18**: 23-42.

Hoerauf A., Buttner W.D., Adjei O., Pearlman E. 2003. Endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in the worms are targets for a new therapeutic approach. *BMJ*, 326, 207-210.

Hougard J.M., Quillévéré D., Campbell J. et al., 1996. Aerial control of "river blindness" in West Africa. *A.G. Pilot International*, n°mai, 16-22.

Hougard JM, Alley ES, Yameogo L, Dadzie KY, Boatin BA .2001. Eliminating onchocerciasis after 14 years of vector control: a proved strategy. *J Infect Dis.* 15;184(4):497-503.

Hougard JM, Poudiougou P, Guillet P, Back C, Akpoboua LK, Quillevere D. 1993. Criteria for the selection of larvicides by the Onchocerciasis Control Programme in west Africa. *Ann Trop Med Parasitol.* 87(5):435-42.

Hougard JM, Yameogo L, Seketeli A, Boatin B, Dadzie KY. 1997. Twenty-two years of blackfly control in the onchocerciasis control programme in West Africa. *Parasitol Today.* 13(11):425-431.

Hougard J.M., 2000. The vector control operations in the Onchocerciasis control programme in West Africa. *Area-wide control of fruit flies and other insect pests. Ed. K.H. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang.* 117-121.

Hougard J.M., Boatin B., Bissan Y., Akpoboua K., Seketeli A., 1998. Contribution du Mectizan® au contrôle de l'onchocercose. Impact sur la transmission: bilan de neuf années d'opérations en Afrique de l'Ouest. *Cahiers Santé.* 8(1):15-9.

Katholi CR, Toe L, Merriweather A, Unnasch TR. Related. 1995. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by polymerase chain reaction screening of pools of black flies. *J Infect Dis.* 172(5):1414-7.

Keddie EM, Higazi T, Boakye D et al. 1999. *Onchocerca volvulus* limited heterogeneity in the nuclear and mitochondrial genomes. *Experimental parasitology*. 93: 198-206.

Kershaw W. E., Duke B. O. L. et Budden F. H. 1956. Distribution of microfilariae of *Onchocerca volvulus* in the skin and its relation to the reservoir of infection to the fly – *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 50, 1- 6.

Kilian, H. D. 1988. The use of topical Mazzoti test in the diagnosis of onchocerciasis. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 39, 235-238.

Le Berre R. 1966. Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, 17, 204 p.

Le Berre R., Garms R., Davies J.B., Walsh J.F. & Philippon B. 1979. Displacements of *Simulium damnosum* and strategy of control against onchocerciasis. *Phil. Trans. R. Lond. B* 287, 277-288.

Le Berre R., Walsh J.F., Philippon B., Poudiougou P., Henderickx J.E.E., Guillet P., Sékétéli A., Quillévéré D., Grunewald J. and Cheke R.A. 1990. The WHO Onchocerciasis Control Programme : retrospect and prospects. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences*, 328, 721-729

Leuckart R.F., 1893. *Filaria volvulus*. In Andrew Hope Davidson's Hygiene and Disease of Warm Climates, ed. J. London: Pentland, 963p.

Lewis D.J. 1958. Observations on *Simulium damnosum* Théobald et Lokoja in Northern Nigeria. *Ann trop. Med. Parasit.*, 52, 216-231

Lewis D. J. et Marr J. D. M., 1963 A nematode from the malpghian tubes of *Simulium damnosum*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 57, 238 p.

Lobos E., Weiss N., Karam M., Taylor HR, Ottesen EA, Nutman TB. 1991. An immunogenic *Onchocerca volvulus* antigen: a specific and early marker of infection. *Science*; 251:1603-1605.

McMahon J.E., Sowa S., Maude G.H., Hudson B.R., Kirwood B.R. 1988a. Epidemiology of onchocerciasis in forest villages of Sierra Leone. *Trop med. Parasitol.* 39, 251-259.

McMahon J.E., Sowa S., Maude G.H., Hudson B.R., Kirwood B.R. 1988a. Onchocerciasis in Sierra Leone. 2: a comparison of forest and savanna villages. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 82 (1988b) 595-600.

Magor J. I., Rosenberg L. J. 1980. Studies of winds and weather during migrations of *Simulium damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae), the vector of onchocerciasis in West Africa. *Bull. ent. Res.* 70, 693-716.

Meredith, S.E.O., Lando, G., Gbakima, A.A. Zimmerman, P.A. et Unnasch, T.R. 1991. *Onchocerca volvulus* : application of polymerase chain reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp. Parasitol.*, 73, 335-344.

Meyer C.G., Gallin M., Erttmann K.D., Bratting N., Schnittger L., Gelhaus A., Tannich E., Begovich A.B., Erlich H.A., Horstmann R.D. 1994. HLA-D alleles associated with generalized diseases, localized diseases, and putative immunity in *onchocerca volvulus* infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* vol 91 pp 7515-7519.

Montpellier J., Lacroix A. 1920. Craw-craw of filarial dermatitis; its origin in the subcutaneous cysts of *Onchocerca volvulus*. *Bull Soc Path Exot*, 13 305-15.

Morales-Hojas R, Post RJ, Shelley AJ, Maia-Herzog M, Coscaron S, Cheke RA. 2001. Characterisation of nuclear ribosomal DNA sequences from *Onchocerca volvulus* and *Mansonella ozzardi* (Nematoda: Filarioidea) and development of a PCR-based method for their detection in skin biopsies. *Int J Parasitol.* 31 (2) : 169-77. Erratum in: *Int J Parasitol* 2001 31 (8) : 850-1.

Mullen K, Prost A. 1983. Decreased Microfilarial Load and its Effect on the Calculation of Prevalence and the rate of False Negatives in the detection of Onchocerciasis. *International Journal of Epidemiology* 12, 1.

- Murata M., Tojo S. 2004. Flight capability and fatty acid level in triacylglycerol of long-distance migratory adults of the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Zoological science* 21 161-188.
- Newland H. S., Kaiser, A. & Taylor, H. R. 1987. The use of diethylcarbamazine cream in the diagnosis of onchocerciasis. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 38, 143-144.
- Nutman TB, Zimmerman PA, Kubofcik J, Kostyu DD. 1994. A universally applicable diagnostic approach to filarial and other infections. *Parasitol Today*. 10 (6) : 239-43.
- Omar MS, Garms R, 1981. Histochemical differentiation of filarial larvae found in *Simulium damnosum* s.l. in west Africa. *Trop. Med. Parasitol.* 32 : 259-264.
- O'Neil J. 1875. On the presence of a filaria in Craw craw. *Lancet*, i, 265-266.
- Ovazza M., Ovazza L. et Balay G. 1965. Étude des populations de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera : Simuliidae) en zones de gîtes non permanents. II. Variations saisonnières se produisant dans les populations adultes et préimaginales. Discussions des différentes hypothèses qui peuvent expliquer le maintien de l'espèce dans les régions sèches. *Bull Soc Pathol Exot.* 58 (6):1118-54.
- Pearlman E., Toé L., Boatin A.B., Adjami A.G., Higgins W.A., Unnasch R.T. 1999. Eotaxin Expression in *Onchocerca volvulus*-Induced Dermatitis after Topical Application of Diethylcarbamazine. *The Journal of Infectious Diseases*; 180: 1394-7.
- Perler, F. B. et Karam, M. 1986. Cloning and characterisation of two *Onchocerca volvulus* repeated DNA sequences. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 21, 171-178.
- Philippon B. & Balay G. 1967. Etude de la biologie et de l'écologie de *S. damnosum* th. à la limite nord de son aire de répartition en Afrique occidentale. Conséquences épidémiologiques. *Médecine d'Afrique Noire*, 14 (10), 507-509.
- Philippon B. 1977. Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. *Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M.* 63 , 308p

Philippon B. & Sékétéli A. 1998. Genèse de l'OCP et situation de l'onchocercose en Afrique occidentale avant les mesures de contrôle. *Cahiers santé*; 8: 27-31

Philippon, B. 1978. L'onchocercose humaine en Afrique de l'ouest. *Travaux et documents de l'O.R.S.T.O.M.*, N° 37, 171p.

Plaisier AP, Alley ES, Van Oortmarssen GJ, Boatin BA, Habbema JD. 1997. Required duration of combined annual ivermectin treatment and vector control in the Onchocerciasis Control Programme in west Africa. *Bull World Health Organ.* 75(3):237-45.

Prod'hon J., Lardeux F., Bain O., Hébrard G., Prud'hom J.M., 1987. Ivermectine et modalités de la réduction de l'infection des simules dans un foyer forestier d'onchocercose humaine. *Ann. Parasitol. Huma Compa.* 62 : 590-598.

Prost, Prod'hon, Tylefors, Crozafon 1977. Rapport OCP / EPI / 77.28

Prost, A. 1980. La latence parasitaire dans l'onchocercose. *Bulletin of the World Health Organization.*, 58, 923-925.

Prod'hon, J. 1988. Onchocercose: épidémiologie. *SERITEC - Publication OCCGE*, 15-23.

Prost A., 1980. Le polymorphisme des onchocercoses humaines ouest africaines. *Annales de parasitologie*, 55, 2, 239-245.

Prost A., Rougemont, A. et BA, O. 1980. Mises au point récentes, épidémiologiques, biologiques, dans l'onchocercose. *Études médicales.*— No 2.

Quillévéré D. 1979. Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, bioécologiques et vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire. *Travaux et documents de l'ORSTOM*. N°109. 304pp.

Remme J., Ba O., Dadzie K.Y. & Karam M. 1986. A force-of-infection model for onchocerciasis and its applications in the epidemiological evaluation of the Onchocerciasis Control Programme in the volta river bassin area. *Bull OMS*, 1986, 64, 667-681.

Remme J., Dadzie K.Y., Rolland A., & Thylefors B. 1989. Ocular onchocerciasis and intensity of infection in the community. I. West Africa savanna. *Trop. Med. Parasitol.*, 40, 340-347.

Remme R.H., Feenstra P., Lever P.R., Medici A., Morel C., Noma M., Ramaiah K.D., Richard F., Sékétéli A., Schununis G., Brakel V.W.H. & Vassal A. 2006. Tropical diseases targarted for elimination : chagas disease, lymphatic filariasis, onchocerciasis and leprosy. Disease control priorities in developing countries. Second edition. Washington (DC), © IBRD/The world bank and Oxford university press

Rolland A. et Balay G. 1969. L'onchocercose dans le foyer Bissa. *Rapport O.C.C.G.E., Centre Muraz, section onchocercose, III/oncho.*, 85 p. ronéo.

Roberts J.M.D., Neumann E., Gockel C.W., Highton R.B. 1967. Onchocerciasis in Kenya 9, 11 and 18 years after elimination of the vector. *Bull. Org. Mond. Santé*, 37, 195-212.

Rougerie G., Ouindé A., Seck M., Kakou E., Scribe-Loyer G., Hampaté Ba H., Holas B., Rougerie M., Guirot-Bourg H. 1978. « L'encyclopédie générale de la Côte d'Ivoire ». *Nouvelles Editions Africaines* (Abidjan, Dakar, Lomé) & *Editions France-Impressions* (Paris). Exemplaire N° 932.

Saint André V.A., Blackwell M.N., Hall R.L., Hoerauf A., Brattig W.N., Volkmann L., Taylor J.M., Ford L., Hise G.A., Lass H.J., Diaconu E., Pearlman E. 2002. The role of endosymbiotic Wolbachia Bacteria in the pathogenesis of river blindness. *Science* 295:1892-1895.

Samba E.M., 1995. Le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest. Un exemple de bonne gestion de la santé publique. © *Oraganisation Mondiale de la santé, Genève.*

Sayer J., Harcourt C.S., Collins N.M. 1992. Conservation atlas of tropical forests : Africa. World Conservation Monitoring Centre et UICN, Cambridge, Pays-Bas.

Shah, J., Karam, M., Piessens, W. F. et Wirth, D. F. 1987. Characterisation of an *Onchocerca* specific clone from *Onchocerca volvulus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37, 376-384.

Statzner B., Hildrew A.G., Resh V.H. 2001. Species traits and environmental constraints: entomological research and history of ecological theory. *Annu. Rev. Entomol.* 46 : 291-316.

Stingl P., Ross M., Gibson D. W., Ribas J. & Connor D. H. 1984. A diagnostic "patch test" for onchocerciasis using topical diethylcarbamazine. *Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 78, 254-258.

Taufflieb. R 1955. Une campagne de lutte contre *Simulium damnosum* au Mayo Kebi. *Bull. soc. Path. Exot.*, 48, 564-578.

Taylor M.J., Hoerauf A. 1999. *Wolbachia* bacteria of filarial nematodes. *Parasitology today* 15 (11) 437-442.

Thylefors B., Philippon B. & Prost A. 1978. Transmission potentials of *Onchocerca volvulus* and the associated intensity of onchocerciasis in Sudan savanna area. *Tropenmed. Parasit.*, 29, 346-354.

Toé L., Back C., Adjami A.G., Tang J.M. & Unnasch T.R. 1997. *Onchocerca volvulus* : Comparison of field collection methods for the preservation of parasite and vector samples for PCR analysis. *Bulletin of the World Health Organization*. 75 (5): 443-447.

Traoré S. & Hébrard G., 1983. Bioécologie et caractéristique vectrices naturelles des femelles du groupe *S. soubrense* / *S. sanctipauli* en Côte d'Ivoire. Doc. ronéot. OCCGE-ORSTOM n° 25/IRTO/RAP/83, 51 pages

Unnash, T.R. and Zimmerman P.A. 1995. Systematics : Questions and approaches for the Molecular Parasitologist. *Molecular Approaches to Parasitology*, pages 5-20 © Wiley-Liss, Inc.

Unnasch T.R. & Meredith S.E.O., 1996. The use of degenerate primers in conjunction with strains and species oligonucleotides to classify *Onchocerca volvulus*. In *Species Diagnostic Protocols : PCR and other Nucleic Acids Methods* (ed. J.P. Clapp), pp. 293-303. Humana Press, Totowa, NJ, USA.

Unnasch T.R., Williams Steven A. 2000. The genomes of *Onchocerca volvulus*. *International Journal for Parasitology* 30, 543-552.

Viney M. 2002. Wolbachia and river blindness. *Trends in Parasitology*. 18, 6, 244.

Walsh J.F. 1977. Problem of migration of vectors of onchocerciasis in control programmes. Proc. 3rd Scientific meeting int. Cent. Phys. Ecol. 70-82.

Walsh J.F., Davies J.B., Le Berre R. & Garms R. 1978. Standardisation of criteria for assessing the effect *Simulium* control in onchocerciasis control programmes. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 72, 675-676.

Walsh J.F., Davies J.B. & Garms. 1981. Further studies on the reinvasion of the Onchocerciasis Control Programme by *Simulium damnosum s.l.* : the effects of an extension of control activities into southern Ivory Coast during 1979. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 32, 269-273.

Walsh J.F. 1984. Memorendum to VCU on the importance of *S. Soubrense* in the savana. Doc. int. OCP, 1984, 8 pages.

Wanson M., Courtois L.R. & Lebied B., 1949. L'éradication du *Simulium damnosum* à Léopoldville. *Ann Soc. Belge Méd. Trop.*, 26, 373-403.

Weil GJ, Ogunrinade AF, Chandrashekar R, Kale OO. 1990. IgG4 subclass serology for onchocerciasis. *J Infect Dis*; 161:549-554.

Yameogo L, Toe L, Hougard JM, Boatina BA, Unnasch TR. 1999. Pool screen polymerase chain reaction for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum sensu lato*: results of a field trial in an area subject to successful vector control. *Am J Trop Med Hyg* ; 60(1):124-8.

Yaméogo L., Traoré K., Back C., Hougard J.M., Calimari D. 2001. Risk assesement of etofenprox (vectron®) on non-target aquatic fauna compared with other pesticides used as Simulium larvicide in a tropical environment. *Chemosphere*. 42 965-974.

Zanou B., 2001, Rapport d'analyse du RGPH-98. Thème 2 : Migrations, Abidjan, Institut national de la statistique.

Zeng W, Donelson JE. The actin genes of *Onchocerca volvulus*. *Mol Biochem Parasitol* 1992; 55:207-16.

Zimmerman P.A., Toe L., Unnasch T.R. 1993. Design of *Onchocerca* DNA probes based upon analysis of a repeated sequence family. *Mol Biochem Parasitol*. 58 (2):259-67.

Zimmerman P. A., Dadzie K. Y., De Sole G., Remme J., Soumbey A. E., Unnasch T. R., 1992. *Onchocerca volvulus* DNA probe classification correlates with epidemiological patterns of blidness. *J. Infect. Dis* 165 : 964-968.

ANNEXES

ABREVIATIONS ET SIGLES

ADN	:	Acide Désoxyribonucléique
ADNc	:	Acide Désoxyribonucléique complémentaire
APOC	:	African Programme for Onchocerciasis Control
BCE	:	Biopsie Cutanée Exsangue
BTH14	:	Bacillus Thuringensis serotype H14
CMFC	:	Charge MicroFilarienne Communautaire
DDT	:	Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane
DEC	:	Diéthylcarbamasine
FAC	:	Fond d'Aide et de Coopération
FED	:	Fonds Européen de Développement
FIDES	:	Finances pour le Développement Economique et Social
FIT	:	Front Inter Tropical
IRD	:	Institut de Recherche pour le Développement
LRCT	:	Laboratoire de Recherche et de Coordination sur les Trypanosomoses
MDSC	:	MultiDisease Surveillance Centre
OCCGE	:	Organisation de Coopération et de Coordination pour la lutte contre les Grandes Endémies
OCP	:	Onchocerciasis Control Program
OEPA	:	Onchocerciasis Elimination Program for the Americas
OMS	:	Organisation Mondiale de la Santé
ORSTOM	:	Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer
PAT	:	Potentiel Annuel de Transmission
PCR	:	Polymerase Chain Reaction
PMT	:	Potentiel Mensuel de Transmission
RFLP	:	Restriction Fragments Length Polymorphism

SGHMP	:	Service Général d'Hygiène Mobile et de Prophylaxie
TAP	:	Taux de Piqûres
TIDC	:	Traitement à l'Ivermectine sous Directive Communautaire
TMP	:	Taux Mensuel de Piqûres
UMR 017	:	Unité Mixte de Recherche 017
ZIS	:	Zone d'Intervention Spéciale

LISTE DES FIGURES

PREMIERE PARTIE : ETAT DES CONNAISSANCES

- Figure 1 : Géorépartition de l'onchocercose en Afrique et dans la péninsule arabique
- Figure 2 : Géorépartition de l'onchocercose dans les Amériques
- Figure 3 : Cycle vital de *Simulium damnosum s.l.*
- Figure 4 : Variation de l'aire de dispersion des femelles de *S. damnosum s.l.* en fonction de la zone bioclimatique et de la saison
- Figure 5 : Aires de réinvasions de l'OCP
- Figure 6 : Cycle de développement d'*Onchocerca volvulus*
- Figure 7 : Impact des traitements ivermectine et/ou larvicides sur la transmission : évolution comparée en Guinée et en Côte d'Ivoire du nombre de larves infestantes de *S. damnosum s.l.* pour 1000 femelles pares.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

- Figure 8 : Étude du mouvement migratoire des simulies : Localisation géographique des pays de collecte
- Figure 9a : Répartition de la population en Sierra Leone
- Figure 9b : Répartition de la pluviométrie en Sierra Leone
- Figure 9c : Couverture végétale de la Sierra Leone
- Figure 9d : Relief de la Sierra Leone
- Figure 10a : Répartition de la population en Guinée

- Figure 10b : Répartition de la pluviométrie en Guinée
- Figure 10c : Couverture végétale en Guinée
- Figure 10d : Relief en Guinée
- Figure 10e : Réseau hydrographique de la Guinée
- Figure 11a : Répartition de la population du Mali
- Figure 11b : Répartition de la pluviométrie du Mali
- Figure 11c : Couverture végétale du Mali
- Figure 11d : Relief du Mali
- Figure 12 : Changements bioclimatiques et onchocercose : Localisation géographique du pays de collecte
- Figure 13a : Zones climatiques de la Côte d'Ivoire
- Figure 13b : Végétation de la Côte d'Ivoire
- Figure 13c : Relief de la Côte d'Ivoire
- Figure 13d : Répartition de la population de la Côte d'Ivoire
- Figure 13e : Cartographie des bassins fluviaux en fonction des stratégies de lutte contre l'onchocercose utilisées en Côte d'Ivoire

TROISIEME PARTIE : ETUDE DES MOUVEMENTS MIGRATOIRES SIMULIDIENS EN AFRIQUE DE L'OUEST

ARTICLE 1

- Figure 1 : Zone d'étude
- Figure 2 : Chronologie des traitements larvicides dans la zone d'étude
- Figures 3 : Variations des MBR et des MTP à Madina Diassa
- Figure 4 : Evolution des ATP et ABR à Madina Diassa
- Figures 5 : Variations des MBR et des MTP à Morigbédougou

- Figure 6 : Evolution des ATP et ABR à Morigbédougou
- Figures 7 : Variations des MBR et des MTP à Musaia
- Figure 8 : Evolution des ATP et ABR à Musaia
- Figure 9 : Evolution du taux d'infectivité des femelles de simules (moyenne arithmétique) à Madina Diassa en saisons sèche et humide
- Figures 10 : Variations des femelles infectieuses à Madina Diassa
- Figures 11 : Variations des femelles infectieuses à Morigbédougou

ARTICLE 2

- Figure 1 : Location of collection sites
- Figures 2 : Climatic characteristics of the points of capture.

QUATRIEME PARTIE : DEVELOPPEMENT DE TESTS DIAGNOSTIQUES POUR L'ONCHOCERCOSE

ARTICLE 4

- Figure 1 : Comparison of infection prevalences as estimated by diethylcarbamazine (DEC) patch and skin snip.
- Figure 2 : Individual responses to the diethylcarbamazine (DEC) patch test at 24 and 48 h
- Figure 3 : Comparison of individual responses to the diethylcarbamazine (DEC)-patch test prior to and 11 months following ivermectin treatment
- Figure 4 : Comparison of individual responses to the diethylcarbamazine (DEC)-patch test employing 10% and 20% solutions at 24h and 48 h

CINQUIEME PARTIE : CHANGEMENTS BIOCLIMATIQUES ET ONCHOCERCOSE

ARTICLE 5 :

- Figure 1 : Location of collection sites
- Figure 2 : Composition of blackfly collections obtained from the Upper and Middle Bandama during 1992-1998
- Figure 3 : Proportion of parasites classified as *Onchocerca volvulus* or non-*O. volvulus* from infected flies collected from the Upper and Middle Bandama
- Figure 4 : Strain identification of parasites collected from the Upper Bandama
- Figure 5 : Strain identification of parasites collected from the Middle Bandama

ARTICLE 6 :

- Figure 1 : Aire du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'ouest (OCP)
- Figure 2 : Localisation des foyers d'étude
- Figure 3 : Evolution et tendance de la pluviométrie annuelle 1963 -1998 à Lamto
- Figures 4 : Migration des isohyètes moyennes en Côte d'Ivoire : période 1931-1995
- Figures 5 : Evolution du couvert végétal dans le foyer du bas Bandama en Côte d'Ivoire
- Figures 6 : Variations interannuelles de la proportion des femelles savaniques de *S. damnosum s.l.* de 1980 à 1998
- Figures 7 : Variations mensuelles des proportions des groupes d'espèces de savane et de forêt de *S. damnosum s.l.* sur le bas Bandama de 1980 à 1998
- Figures 8 : Variations mensuelles des proportions des groupes d'espèces de savane et de forêt de *S. damnosum s.l.* sur la basse Comoé de 1980 à 1998

-
- Figures 9 : Evolution des espèces de *S. damnosum s.l.* sur le bas Bandama pendant la période 1980-1998
- Figures 10 : Evolution des espèces de *S. damnosum s.l.* sur la basse Comoé pendant la période 1981-1997
- Figure 11 : Evolution des proportions moyennes de femelles savaniques piqueuses et infectieuses de *S. damnosum s.l.* sur le bas Bandama
- Figure 12 : Proportions moyennes de femelles savaniques infectieuses de *S. damnosum s.l.* en fonction des femelles piqueuses sur le bas Bandama
- Figure 13 : Evolution des proportions moyennes de femelles savaniques piqueuses et infectieuses de *S. damnosum s.l.* sur la basse Comoé
- Figure 14 : Proportions moyennes de femelles savaniques infectieuses de *S. damnosum s.l.* en fonction des femelles piqueuses sur la basse Comoé
- Figures 15 : Proportions moyennes annuelles des larves infectantes d'*O. volvulus* savane en fonction des femelles savaniques piqueuses de *S. damnosum s.l.*
- Figures 16 : Evolution des potentiels annuels de transmission sur le bas Bandama pendant la période 1978-1998
- Figures 17 : Evolution des potentiels annuels de transmission sur la basse Comoé pendant la période 1979-1997

LISTE DES ILLUSTRATIONS

INTRODUCTION

Illustration 1 : L'onchocercose hier et aujourd'hui

Illustration 2 : Aires initiale et extensions de l'OCP

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

Illustration 3 : Méthode de capture des femelles de simule sur appât humain

Illustration 4 : Critères d'identification morphologique de *S. damnosum s.l.*

Illustration 5 : Instrument et méthode de prélèvement de fragments cutanés

Illustration 6 : Application topique de la diéthylcarbamazine

LISTE DES TABLEAUX

PREMIERE PARTIE : ETAT DES CONNAISSANCES

- Tableau 1 : Position systématique de *Simulium damnosum* (Crosskey, 1990)
- Tableau 2 : Groupe, sous-complexes, espèces et formes du complexe *S. damnosum* s.l.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

- Tableau 2 : Estimations de la modification du couvert forestier en Côte d'Ivoire

TROISIEME PARTIE : ETUDE DES MOUVEMENTS MIGRATOIRES SIMULIDIENS EN AFRIQUE DE L'OUEST

ARTICLE 1 :

- Tableau 1 : Répartition des femelles infectieuses et des infections par point

ARTICLE 2 :

- Table 1 : Microsatellite Loci and primers sequences
- Tables 2 : Genetic variability at four microsatellite loci in 20 *Simulium sirbanum* samples, collected at Musaia and Yirafilaia (2a), at Morigbédougou (2b) and in Mali (2c)
- Table 3 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Madina diassa & Morigbedougou.
- Table 4 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Madina diassa & Musaia.
- Table 5 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples of *S. sirbanum* from Morigbedougou & Musaia.
- Table 6 : Estimate of the effective number of migrants (N_m)

- Table 7 : Pairwise estimates of F_{ST} between samples collected over time

QUATRIEME PARTIE : DEVELOPPEMENT DE TESTS DIAGNOSTIQUES POUR L'ONCHOCERCOSE

ARTICLE 3 :

- Table 1 : Comparison of microscopic examination and the O-150 PCR assays
- Table 2 : *O. volvulus* infection prevalences measured by microscopic examination of skin snips and skin scratch PCR

ARTICLE 4 :

- Table 1 : Characteristics of the onchocerciasis study sites
- Table 2 : Performance of the DEC-patch assay compared to the skin snip in children and adolescents
- Table 3 : Performance of the DEC-patch assay when compared to the O-150 PCR
- Table 4 : Performance of the DEC-patch assay employing 10% and 20% solutions compared to the skin snip
- Table 5 : Performance of the DEC-patch assay compared to the skin snip as function of age

CINQUIEME PARTIE : CHANGEMENTS BIOCLIMATIQUES ET ONCHOCERCOSE

ARTICLE 6 :

- Tableau 1 : Résultats du test de tendance des proportions moyennes des femelles savanicoles de *S. damnosum* s.l. dans les foyers du bas Bandama et de la basse Comoé
- Tableau 2 : Résultats des tests de régression entre les proportions de femelles savanicoles piqueuses de *S. damnosum* s.l. et celles des infectieuses dans le foyer du bas Bandama
- Tableau 3 : Résultats des tests de régression entre les proportions de

femelles savaniques piqueuses de *S. damnosum* s.l. et celles des infectieuses dans le foyer de la basse Comoé

- Tableau 4 : Résultats des tests de régression entre les proportions de larves infectantes d'*O. volvulus* savane et celles des femelles savaniques piqueuses de *S. damnosum* s.l.

Contribution à la surveillance entomologique et épidémiologique de l'onchocercose en Afrique de l'ouest

Résumé : En Afrique de l'Ouest, les efforts convergent vers une surveillance fiable et efficace de l'onchocercose pour maintenir les acquis nés du succès du programme OCP. L'un des obstacles à l'éradication de la maladie serait constitué par les migrations de simules. Des études entre les bassins fluviaux du nord de la Sierra Leone, ceux de la Guinée et du Mali ont montré qu'il existe des migrations saisonnières de simules pouvant représenter un risque épidémiologique lorsque ces dernières sont infectées ; que la distribution de l'ivermectine au niveau des sources de migration permet une réduction drastique du taux d'infectivité des simules migrantes ; et que les marqueurs microsatellites développés pour *S. damnosum s.l.* peuvent aider à la localisation des sources de migration.

Un test diagnostic sensible, spécifique, non invasif et indolore en remplacement de la biopsie cutanée, de moins en moins adaptée au contexte épidémiologique actuel, est nécessaire. Nous recommandons ici deux nouveaux tests diagnostics : le « skin scratch test » et le « DEC patch test », pour la surveillance de la recrudescence onchocerquienne.

Nous avons entrepris des études de l'impact des changements bioclimatiques sur l'épidémiologie de l'onchocercose en Côte d'Ivoire. Nos résultats montrent qu'il existe un risque d'extension de l'onchocercose cécitante en zone de forêt. La pénétration et la sédentarisation des espèces de simules savanicoles dans les zones de transition forêt - savane et les migrations humaines en seraient les principaux facteurs.

Mots clés : *Simulium damnosum s.l.*, *Onchocerca volvulus*, onchocercose, mouvements migratoires, tests diagnostics, modifications bioclimatiques

Contribution to the entomological and epidemiological monitoring of the onchocerciasis in West Africa

Abstract : In West Africa, efforts are geared towards a reliable and effective monitoring of onchocerciasis to maintain the assets resulting from the success of the OCP program. One of the obstacles of the disease eradication might be the migration of blackflies. Studies between the river basins of northern Sierra Leone, of Guinea and Mali showed that there is a seasonal migration of blackflies which could be an epidemiologic risk when blackflies are infected ; that the distribution of ivermectine targeting the sources of migration allows a drastic reduction in the migrant blackflies infectivity rate ; and that the microsatellites markers developed for *S. damnosum s.l.* can contribute to the locating of the sources of migration.

A diagnosis test which is sensitive, specific, noninvasive and painless meant to replace the skin snip, which is becoming less and less adapted to the current epidemiological context, is necessary. We recommend here two new diagnostic tests : the skin scratch test and DEC patch test, for the monitoring of onchocerciasis recrudescence.

We undertook impact studies of the bioclimatic changes on the epidemiology of onchocerciasis in Côte d'Ivoire. Our results show that there is a risk of extension of onchocerciasis blindness in forest zone. The penetration and the sedentarisation of the savannah species of blackflies in the forest - savanna transition zones and human migration would be the principal factors.

Keywords : *Simulium damnosum s.l.*, *Onchocerca volvulus*, onchocerciasis, migratory movements, diagnostics tests, bio-climatic changes