

## EFFET A LONG TERME D'UNE PRISE UNIQUE D'IVERMECTINE SUR LES CHARGES MICROFILARIENNES DERMIIQUES DANS UN FOYER D'ONCHOCERCOSE DU NORD-CAMEROUN

par

M. BOUSSINESQ<sup>1</sup>, J. PROD'HON<sup>1</sup>, J.-P. CHIPPAUX<sup>1</sup> & D. QUILLEVERE<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Antenne ORSTOM auprès du Centre Pasteur du Cameroun,  
BP 1274, Yaoundé, Cameroun

<sup>2</sup>Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest,  
BP 549, Ouagadougou, Burkina Faso

**Résumé.** — L'effet à long terme d'un traitement unique par l'ivermectine (150 µg/kg) sur les charges microfilariennes dermiques a été évalué par un suivi parasitologique, avant et après traitement, de 192 sujets vivant dans un foyer d'onchocercose du Nord-Cameroun. Deux villages dont les charges microfilariennes de communauté (CMFL) avant traitement étaient de 5,5 et 25,1 microfilaires par biopsie et qui avaient fait l'objet d'un traitement de masse par l'ivermectine en 1989 ont été examinés sur le plan parasitologique après 32 mois; lors de ce contrôle, les densités microfilariennes moyennes chez les adultes n'étaient remontées qu'à respectivement 24 et 51 % de leurs valeurs initiales. Dans un autre village (CMFL initiale: 12,0 microfilaires par biopsie) traité à une seule reprise en 1989 mais situé dans une zone où des traitements à large échelle sont effectués chaque année depuis 1987, la charge microfilarienne moyenne chez les adultes n'était remontée qu'à 12 % de sa valeur initiale 28 mois après le traitement. En 1992, les charges microfilariennes des enfants n'étaient abaissées significativement par rapport à celles de 1989 que dans le village où le niveau d'endémie initial était le plus faible. La rapidité de la repopulation du derme par les microfilaires après un traitement par l'ivermectine dépend du niveau d'endémie initial dans la communauté traitée. L'impact de traitements de masse par l'ivermectine sur la transmission de l'onchocercose renforce l'effet à long terme de ce médicament sur les charges microfilariennes dermiques.

KEYWORDS: Onchocerciasis; Ivermectin; Long-term efficacy; Cameroon.

### Introduction

L'évolution à long terme des charges microfilariennes dermiques chez des sujets onchocerciens ayant reçu un traitement unique par l'ivermectine n'a été étudiée qu'au cours d'essais thérapeutiques en phase III réalisés chez des adultes. En Côte-d'Ivoire et au Libéria, 24 mois après un traitement à la dose de 150 µg/kg, les charges microfilariennes n'étaient remontées qu'à environ 40 % de leur niveau initial (5, 15); au Togo, elles étaient inférieures à 30 % des valeurs initiales après le même délai et restaient stables entre la deuxième et la troisième année suivant le traitement (3, 12, 13).

Au Nord-Cameroun, l'efficacité sur les charges microfilariennes dermiques de divers protocoles de traitement par l'ivermectine est étudiée depuis 1987 (8). Nous présentons ici les résultats d'un contrôle parasitologique effectué en 1992 chez 192 sujets ayant reçu un seul traitement par l'ivermectine (150 µg/kg) en 1989. Cet examen a été réalisé dans trois villages soumis à des intensités de transmission de l'onchocercose différentes afin d'évaluer l'influence de ce facteur sur l'évolution des charges microfilariennes après le traitement.

## Patients et méthodes

Les villages étudiés sont situés dans la vallée de la Vina du Nord :

- deux des localités (Ngan Ha et Gangassao, peuplés respectivement de 1 550 et 1 400 habitants) sont situées dans la partie occidentale de la vallée, sur le Plateau de l'Adamaoua. Elles ont été traitées par l'ivermectine pour la première fois en mai 1989 et contrôlées en janvier 1992, soit après 32 mois. Aucune campagne de distribution d'ivermectine n'a été entreprise dans cette zone durant cet intervalle;
- le troisième village (Tapi, environ 1 000 habitants) est proche de la ville de Touboro, dans la partie orientale de la vallée. Ses habitants ont été traités pour la première fois en septembre 1989 et contrôlés en janvier 1992, après un délai de 28 mois. Les sujets inclus dans l'étude n'ont reçu aucun traitement par l'ivermectine entre 1989 et 1992. Des traitements par l'ivermectine à large échelle sont réalisés chaque année depuis 1987 dans les villages situés entre Tapi et la Vina du Nord.

Un examen parasitologique a été effectué en 1989, avant le premier traitement, dans les trois villages étudiés : deux biopsies cutanées exsangues (une à chaque crête iliaque) ont été réalisées avec une pince Holth 2 mm; les microfilaries issues de ces prélèvements ont été dénombrées après incubation de 24 heures en eau physiologique. Cet examen a concerné respectivement 424, 391 et 261 sujets à Ngan Ha, Gangassao et Tapi. Les charges microfilarieuses de communauté (CMFL) (\*) étaient comprises entre 5,5 microfilaries par biopsie (mf/b) à Gangassao à 25,1 mf/b à Ngan Ha (tableau 1).

TABLEAU 1  
Evolution des charges microfilarieuses dermiques 32 mois (Ngan Ha et Gangassao) et 28 mois (Tapi) après une prise unique d'ivermectine.  
CMFL initiale = charge microfilarieuse de communauté avant traitement;  
CMFM 89 et CMFM 92 = respectivement charge microfilarieuse moyenne en 1989 et en 1992;  
N = effectif des sujets examinés; mf/b: microfilaries par biopsie.

| VILLAGE<br>(CMFL initiale) | AGE      | N  | CMFM 89 | CMFM 92 | CMFM 92/<br>CMFM 89<br>(%) | Comparaison<br>89/92        |
|----------------------------|----------|----|---------|---------|----------------------------|-----------------------------|
| NGAN HA<br>(25,1 mf/b)     | 5-14 ans | 21 | 1,8     | 2,4     | 133                        | $p > 0,50$<br>$p < 10^{-9}$ |
|                            | ≥ 15 ans | 72 | 41,8    | 21,2    | 51                         |                             |
| GANGASSAO<br>(5,5 mf/b)    | 5-14 ans | 24 | 1,1     | 0,3     | 27                         | $p < 0,05$<br>$p < 10^{-8}$ |
|                            | ≥ 15 ans | 27 | 3,8     | 0,9     | 24                         |                             |
| TAPI<br>(12,0 mf/b)        | 5-14 ans | 16 | 0,5     | 0,3     | 60                         | $p > 0,50$<br>$p < 10^{-8}$ |
|                            | ≥ 15 ans | 32 | 11,0    | 1,3     | 12                         |                             |

Un traitement par l'ivermectine a été administré à la dose recommandée dans le traitement de l'onchocercose (150 µg/kg) à toutes les personnes qui

(\*) La CMFL (Community Microfilarial Load) est la moyenne géométrique de Williams des charges microfilarieuses individuelles par biopsie chez les sujets de 20 ans et plus, la charge microfilarieuse individuelle étant la moyenne arithmétique des charges observées dans les deux biopsies (9). La CMFL est calculée après avoir ajouté la valeur 1 aux charges individuelles par biopsie, cette transformation permettant de prendre en compte les charges nulles (16).

le désiraient, en tenant compte de certaines contre-indications : âge inférieur à 5 ans, poids inférieur à 15 kg, grossesse, allaitement d'un enfant de moins d'un mois, mauvais état général. La couverture thérapeutique obtenue à Ngan Ha et Gangassao a été d'environ 50% de la population éligible pour le traitement et, à Tapi, d'environ 30%.

Tous les sujets contrôlés en 1992 avaient eu un premier examen parasitologique en 1989, préalablement à la prise d'ivermectine. L'examen parasitologique des sujets a été effectué selon la même méthodologie et par les mêmes opérateurs avant et après traitement.

Seuls les sujets ayant eu un examen parasitologique en 1989, avant traitement, et un nouvel examen en 1992 ont été pris en compte dans l'analyse. Les enfants âgés de 5 à 14 ans en 1989 et les adultes ont été considérés séparément. L'indice utilisé pour juger de l'évolution des charges entre 1989 et 1992 est la charge microfilarienne moyenne (CMFM), définie comme la moyenne géométrique de Williams des charges microfilariennes individuelles par biopsie. Comme pour la CMFL, le calcul de la CMFM a été effectué après avoir ajouté la valeur 1 aux charges individuelles par biopsie, cette transformation permettant de prendre en compte les charges nulles (16). Les comparaisons entre les moyennes ont été effectuées en utilisant le test t de Student pour les séries appariées. Le test a été réalisé après transformation des charges microfilariennes individuelles par biopsie (x) de chaque individu selon la formule :  $x \rightarrow \text{Log}(x+1)$ .

## Résultats

L'effectif des sujets, les CMFM avant et après traitement et le résultat des test statistiques de comparaison des CMFM sont présentés dans le tableau 1.

Le contrôle parasitologique effectué en 1992 a concerné 192 sujets.

Chez les enfants des deux villages les plus fortement infectés, Ngan Ha et Tapi, les charges microfilariennes ne sont pas significativement différentes en 1989 (CMFM respectivement égales à 1,8 et 0,5 mf/b) et en 1992 (CMFM respectivement égales à 2,4 et 0,3 mf/b). A Gangassao, en revanche, les CMFM relevées en 1992 sont significativement plus faibles que celles observées avant traitement (CMFM égales à 1,1 mf/b en 1989 et 0,3 mf/b en 1992).

Dans les trois localités, les CMFM des adultes sont significativement plus basses en 1992 qu'avant traitement. Les charges microfilariennes observées dans cette classe d'âge en 1992 à Ngan Ha, Gangassao et Tapi ne sont respectivement remontées qu'à 51, 24 et 12% de leurs valeurs initiales (CMFM respectivement égales à 41,8, 3,8 et 11,0 mf/b en 1989 et à 21,2, 0,9 et 1,3 mf/b en 1992). La repopulation du derme par les microfilaires est donc plus rapide à Ngan Ha que dans les deux autres localités. Néanmoins, en 1992, aucun des adultes examinés à Ngan Ha ne présente plus de 400 microfilaires par biopsie (contre 6 avant traitement) et le nombre d'adultes présentant de 200 à 400 microfilaires par biopsie est passé de 11 en 1989 à 5 en 1992 (Figure 1).

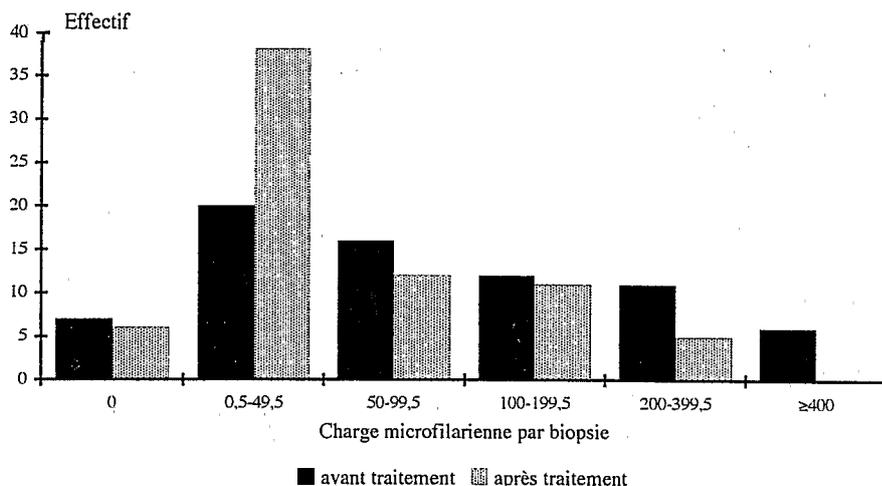


Figure 1  
Répartition des charges microfilariennes avant et 32 mois après un traitement unique par ivermectine chez 93 sujets du village de Ngan Ha.

## Discussion

Cette étude confirme et précise les résultats obtenus en Côte-d'Ivoire, au Libéria et au Togo (3, 5, 12, 13, 15). La rapidité de la remontée des charges microfilariennes au sein de la population traitée dépend d'une part du niveau d'endémie dans la communauté avant traitement et, d'autre part, de l'intensité de la transmission de l'onchocercose dans la région.

Le premier facteur est mis en évidence dans les deux villages situés dans la partie occidentale de la vallée: 32 mois après le traitement, le taux de réduction des charges chez les sujets adultes de Ngan Ha, village où la CMFL avant traitement était relativement importante (25,1 mf/b), est inférieur à celui observé à Gangassao, où le niveau d'endémie est moindre (CMFL initiale égale à 5,5 mf/b). Ceci peut s'expliquer par le fait que les adultes de Ngan Ha présentent un nombre moyen de vers adultes plus élevé que ceux de Gangassao. L'ivermectine provoque un arrêt de la libération des microfilaries par les onchocercques femelles. Cet effet dure environ un an, délai après lequel la ponte des microfilaries reprend un rythme normal (11). On peut considérer, au niveau individuel, que la repopulation du derme par les microfilaries sera d'autant plus rapide que le nombre de femelles adultes est plus élevé. Au niveau de la communauté, la remontée de la charge microfilarienne moyenne sera d'autant plus rapide que le niveau d'endémie initial est plus important.

Le rôle du second facteur est mis en évidence par les résultats obtenus à Tapi (CMFL avant traitement égale à 12,0 mf/b). Dans cette localité, le taux de réduction des charges est beaucoup plus important que celui observé dans les deux autres villages étudiés. Ceci est probablement dû, en partie, au fait que le contrôle parasitologique y a été effectué 28 mois et non 32 mois après le traitement, comme à Ngan Ha et Gangassao. Mais par ailleurs,

les villages situés aux alentours de Tapi ont été traités régulièrement par l'ivermectine depuis fin 1987, soit environ deux ans avant Tapi. Ces traitements ont entraîné une chute de l'intensité de la transmission de l'onchocercose dans la partie orientale de la vallée de la Vina (8). L'impact d'une baisse de la transmission de l'onchocercose sur l'intensité de l'infestation dans la population humaine a été mis en évidence dans l'aire du Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP) (10): deux ans après le début des opérations de lutte contre les simuliés, dans les villages où la CMFL était initialement de 10 mf/b, cet indice n'était pas significativement diminué; en revanche, il avait chuté d'environ 45% après un délai supplémentaire de deux ans et demi (10). Ainsi, on peut considérer que la CMFL de Tapi n'a probablement pas varié entre 1987, date de début des traitements par ivermectine dans la vallée de la Vina, et 1989, date où les habitants de Tapi ont été examinés et traités pour la première fois. En revanche, en 1992, soit quatre ans et demi environ après le début des traitements à large échelle dans la région, l'impact de ces derniers sur le niveau d'endémie de Tapi doit être décelable, même s'il est inférieur à celui qu'aurait entraîné une lutte antismulidiennne. On peut donc considérer que les charges microfilariennes très basses observées à Tapi en 1992 sont le résultat combiné de l'action microfilaricide directe de l'ivermectine et de celle, indirecte, de ce médicament sur la transmission de l'onchocercose.

Les mécanismes conduisant à un effet prolongé de l'ivermectine sur les charges microfilariennes dermiques des sujets onchocerquiens ne sont pas connus. Schulz-Key *et al.* (12) ont suggéré que ce phénomène était lié à une modification, après traitement, de la réponse immunitaire des sujets vis-à-vis du parasite, entraînant une rupture de l'équilibre dynamique entre ce dernier et l'hôte et des répercussions sur la production des microfilaries. L'effet de traitements répétés à six mois d'intervalle sur la réponse immunitaire de sujets onchocerquiens a été étudié au Guatemala (14) et en Sierra Leone (6). Une augmentation de la réponse à médiation cellulaire vis-à-vis d'antigènes d'*Onchocerca* a été mise en évidence au cours de ces études. En revanche, l'évolution à long terme du statut immunologique des sujets onchocerquiens après une prise unique d'ivermectine n'est pas connue. Un effet à long terme de l'ivermectine a également été mis en évidence sur la microfilarémie de sujets infectés par *Wuchereria bancrofti* (1). Chez ces patients, ainsi que chez des sujets traités par diéthylcarbamazine (DEC), il a été observé une augmentation de la réponse à médiation cellulaire vis-à-vis d'antigènes de *Brugia pahangi* mais pas de modification des titres d'anticorps antifilariens (4). Les auteurs de cette étude évoquent la possibilité d'un accroissement de l'efficacité de l'ivermectine et de la DEC lié aux modifications immunologiques qu'ils entraînent. Des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer la part respective des différents modes d'action de l'ivermectine dans l'efficacité thérapeutique de ce médicament tant dans l'onchocercose que dans les filarioses lymphatiques.

Dans la vallée de la Vina, l'efficacité à long terme de l'ivermectine est plus marquée chez les adultes que chez les enfants. Dans cette même zone, une telle différence avait été notée six mois et un an après un traitement unique par ivermectine (8). Cela pourrait être lié, au moins en partie, au fait que les enfants hébergent, par rapport aux adultes, une proportion supérieure de jeunes onchocerques immatures: ces derniers, pouvant commencer à

produire des microfilaries après la prise d'ivermectine, tendent à compenser, chez les enfants, l'effet du médicament qui s'exerce sur les microfilaries présentes dans le derme avant le traitement. Chez les enfants de Ngan Ha, la charge microfilarienne moyenne tend à augmenter entre 1989 et 1992. Ce phénomène n'est pas observé dans les deux autres localités étudiées. Ceci est probablement dû au fait que l'intensité de la transmission de l'onchocercose est plus importante à Ngan Ha et qu'en conséquence l'accroissement avec l'âge des charges microfilariennes est plus rapide chez les enfants de ce village que chez ceux de Gangassao ou de Tapi.

La mise en évidence d'un effet à long terme de l'ivermectine sur les charges microfilariennes pourrait avoir des conséquences sur le choix de la stratégie de distribution de ce médicament. Actuellement, dans la plupart des programmes chimiothérapeutiques à large échelle contre l'onchocercose, il est prévu de répéter les traitements chaque année. Les résultats obtenus au Togo, au Libéria et au cours de notre étude pourraient inciter les organisateurs des campagnes de distribution d'ivermectine à augmenter les intervalles entre les traitements. Cependant, la couverture thérapeutique obtenue au cours de ces programmes dépassant rarement 70 % de la population éligible pour le traitement, il nous semble qu'un délai d'un an entre les prises doit être maintenu : l'effet à long terme de l'ivermectine sur les charges microfilariennes permettrait alors d'obtenir une bonne efficacité du programme au niveau communautaire, même si un certain nombre de sujets échappe, pour diverses raisons (contre-indications transitoires, déplacement temporaire hors de la zone concernée, refus du traitement), à une séance de distribution.

Des modèles mathématiques ont été construits pour évaluer l'impact à long terme des diverses mesures de lutte contre l'onchocercose, antivectorielles et/ou chimiothérapeutiques par l'ivermectine (2, 7). Un des facteurs essentiels à prendre en compte dans ces simulations est la rapidité de repopulation du derme par les microfilaries après traitement. Nous avons montré que celle-ci dépend largement du niveau d'endémie initial dans la communauté. Des études visant à rechercher des corrélations entre les charges microfilariennes moyennes avant traitement et celles observées après un an, intervalle de temps recommandé entre les traitements successifs, permettraient d'affiner le modèle proposé.

Remerciements. — *Cette étude a reçu le soutien financier du Programme spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS de recherche et de formation concernant les maladies tropicales (ID. n° 870336). Nous remercions les Docteurs L. Benoist, J.-C. Ernould, B. Kollo, C. Malagal et P. Richard et Messieurs A. Amadou, J. Baldjagai, E. Béda et Madi Kambaba pour leur participation à ce travail.*

**Long-term efficacy of a single dose of ivermectin on the skin microfilarial densities in an area endemic for onchocerciasis in North Cameroon.**

*Summary.* — The long-term efficacy of a single dose of ivermectin (150 µg/kg) on skin microfilarial densities was evaluated by comparing parasite levels, before and after treatment, in 192 patients living in an area endemic for onchocerciasis in North Cameroon. A mass treatment with ivermectin has been undertaken in 1989 in two villages, where pretreatment community microfilarial loads (CMFL) were 5.5 and 25.1 microfilariae per snip. The parasitological examination carried out 32 months later showed that the microfilarial densities in the adults were only 24 and 51% of the initial values, respectively. In a third village, treated once in 1989 but located in an area where annual mass distributions of ivermectin have been undertaken since 1987, the mean microfilarial density 28 months after treatment was only 12% of the initial value. In 1992, the mean microfilarial load in children had decreased significantly in comparison with those of 1989 only in the village where the level of endemicity was initially the lowest. The rate of increase in the number of skin microfilariae after one dose of ivermectin is related with the pretreatment

endemicity level. The impact of large-scale ivermectin treatments on the transmission of onchocerciasis enhances the long-term efficacy of this drug on the skin microfilarial densities.

**Lange termijn werking van een éénmalig dosis ivermectine op de microfilarieële huiddensiteit in een voor onchocerciasis endemisch gebied in Noord Kameroen.**

*Samenvatting.* — De lange termijn werking van een éénmalige dosis ivermectine (150 µg/kg) op de microfilarieële huiddensiteit werd bestudeerd door vergelijking van de wormlast, vóór en na de behandeling, in 192 patiënten die een gebied in Noord Kameroen bewonen waar onchocerciasis endemisch is. Massale behandeling met ivermectine werd gestart in 1989 in twee dorpen, waar vóór de behandeling de microfilarieële wormlast in de gemeenschap (CMFL) respectievelijk 5,5 en 25,1 microfilaria per biopsie bedroeg. Parasitologisch onderzoek uitgevoerd na 32 maanden toonde aan dat de microfilarieële densiteiten bij volwassenen respectievelijk slechts 24 en 51% bedroegen van de initiële waarden. In een derde dorp, éénmalig behandeld in 1989 maar gelegen in een gebied waar jaarlijkse massa behandeling met ivermectine was gestart in 1987, bedroeg de gemiddelde microfilarieële wormlast 28 maanden na de behandeling slechts 12% van de initiële waarde. In 1992 verminderde de microfilarieële wormlast bij kinderen beduidend in vergelijking met deze van 1989 alleen in het dorp waar de initiële endemische waarde het geringst was. De snelheid waarmee een nieuwe verhoging optreedt van het aantal huidmicrofilariae na een behandeling met ivermectine hangt af van het niveau van de initiële endemische wormlast vóór de behandeling. De impact van grootschalige ivermectine behandelingen op de overdracht van onchocerciasis versterkt de lange termijn doelmatigheid van dit produkt op het voorkomen van microfilariae in de huid.

Reçu pour publication le 10 mai 1993.

REFERENCES

1. Eberhard ML, Hightower AW, McNeeley DF, Lammie PJ: Long-term suppression of microfilaraemia following ivermectin treatment. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **86**, 287-288.
2. Habbema JDF, Alley ES, Plaisier AP, van Oortmarssen GJ, Remme JHF: Epidemiological modelling for onchocerciasis control. *Parasitology Today*, 1992, **8**, 99-103.
3. Heuschkel C, Schulz-Key H, Banla M, Grger H, Klger S, Klaus V, Awissi D: Onchocercosetherapie: Eine Langzeitstudie mit Ivermectin in Togo. *Mitt. sterr. Ges. Tropenmed. Parasitol.*, 1989, **11**, 81-88.
4. Lammie PJ, Hightower AW, Richards Jr FO, Bryan RT, Spencer HC, McNeeley DF, McNeeley MB, Eberhard ML: Alterations in filarial antigen-specific immunologic reactivity following treatment with ivermectin and diethylcarbamazine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **46**, 292-295.
5. Larivière M, Beauvais B, Aziz M *et al.*: Etude en Côte-d'Ivoire (1985-1987) de l'efficacité et de la tolérance de l'ivermectine (Mectizan®) dans l'onchocercose humaine. II. Evaluation, en vue de campagnes de masse, des effets de l'administration annuelle ou semestrielle de doses uniques orales de 100, 150 ou 200 mcg/kg. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1989, **82**, 48-57.
6. Luty AJ, Downham MD, Whitworth JA, Morgan D, Taylor DW: Immunological studies on onchocerciasis in Sierra Leone. 2. Cell-mediated immune responses after repeated treatment with ivermectin. *Trop. Med. Parasit.*, 1992, **43**, 54-58.
7. Plaisier AP, van Oortmarssen GJ, Habbema JDF, Remme JHF, Alley ES: ONCHOSIM: a model and computer simulation program for the transmission and control of onchocerciasis. *Comp. Meth. Prog. Biomed.*, 1990, **31**, 43-56.
8. Prod'hon J, Boussinesq M, Fobi G, Prud'hom JM, Enyong P, Lafleur C, Quillvr D: Lutte contre l'onchocercose par ivermectine: résultats d'une campagne de masse au Nord-Cameroun. *Bull. WHO*, 1991, **69**, 443-450.
9. Remme J, Ba O, Dadzie KY, Karam M: A force-of-infection model for onchocerciasis and its applications in the epidemiological evaluation of the Onchocerciasis Control Programme in the Volta River basin area. *Bull. WHO*, 1986, **64**, 667-681.
10. Remme J, De Sole G, van Oortmarssen GJ: The predicted and observed decline in onchocerciasis infection during 14 years of successful control of *Simulium* spp. in West Africa. *Bull. WHO*, 1990, **68**, 331-339.
11. Schulz-Key H: The collagenase technique: how to isolate and examine adult *Onchocerca volvulus* for the evaluation of drug effects. *Trop. Med. Parasit.*, 1988, **39**, 423-440.
12. Schulz-Key H, Soboslay PT, Hoffmann WH: Ivermectin-facilitated immunity. *Parasitology Today*, 1992, **8**, 152-153.
13. Schulz-Key H, Heuschkel C, Banla M, Grger H, Awissi D: Long-term efficacy of ivermectin on *Onchocerca volvulus*. *Trop. Med. Parasit.*, 1989, **40**, 493-494.

14. Steel C, Lujan-Trangay A, Gonzalez-Peralta C, Zea-Flores G, Nutman TB: Immunologic responses to repeated ivermectin treatment in patients with onchocerciasis. *J. Infect. Dis.*, 1991, **164**, 581-587.
15. Taylor HR, Greene BM: The status of ivermectin in the treatment of human onchocerciasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989, **41**, 460-466.
16. Williams CB: The use of logarithms in the interpretation of certain entomological problems. *Ann. appl. Biol.*, 1937, **24**, 404-414.