



Organisation
mondiale de la Santé

Manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose





Manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose

Manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose [Entomological manual for onchocerciasis elimination programmes]

ISBN 978-92-4-009627-1 (version électronique)

ISBN 978-92-4-009628-8 (version imprimée)

© **Organisation mondiale de la Santé 2024**

Certains droits réservés. La présente œuvre est disponible sous la licence Creative Commons Attribution – Pas d'utilisation commerciale – Partage dans les mêmes conditions 3.0 IGO (CC BY-NC-SA 3.0 IGO ; <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo/deed.fr>).

Aux termes de cette licence, vous pouvez copier, distribuer et adapter l'œuvre à des fins non commerciales, pour autant que l'œuvre soit citée de manière appropriée, comme il est indiqué ci-dessous. Dans l'utilisation qui sera faite de l'œuvre, quelle qu'elle soit, il ne devra pas être suggéré que l'OMS approuve une organisation, des produits ou des services particuliers. L'utilisation du logo de l'OMS est interdite. Si vous adaptez cette œuvre, vous êtes tenu de diffuser toute nouvelle œuvre sous la même licence Creative Commons ou sous une licence équivalente. Si vous traduisez cette œuvre, il vous est demandé d'ajouter la clause de non-responsabilité suivante à la citation suggérée : « La présente traduction n'a pas été établie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). L'OMS ne saurait être tenue pour responsable du contenu ou de l'exactitude de la présente traduction. L'édition originale anglaise est l'édition authentique qui fait foi ».

Toute médiation relative à un différend survenu dans le cadre de la licence sera menée conformément au Règlement de médiation de l'Organisation mondiale de la propriété intellectuelle (<https://www.wipo.int/amc/fr/mediation/rules/index.html>).

Citation suggérée. Manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose [Entomological manual for onchocerciasis elimination programmes]. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2024. Licence : CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Catalogage à la source. Disponible à l'adresse <https://iris.who.int/?locale-attribute=fr&>.

Ventes, droits et licences. Pour acheter les publications de l'OMS, voir <https://www.who.int/publications/book-orders>. Pour soumettre une demande en vue d'un usage commercial ou une demande concernant les droits et licences, voir <https://www.who.int/fr/copyright>.

Matériel attribué à des tiers. Si vous souhaitez réutiliser du matériel figurant dans la présente œuvre qui est attribué à un tiers, tel que des tableaux, figures ou images, il vous appartient de déterminer si une permission doit être obtenue pour un tel usage et d'obtenir cette permission du titulaire du droit d'auteur. L'utilisateur s'expose seul au risque de plaintes résultant d'une infraction au droit d'auteur dont est titulaire un tiers sur un élément de la présente œuvre.

Clause générale de non-responsabilité. Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'OMS aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les traits discontinus formés d'une succession de points ou de tirets sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'OMS, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'OMS a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'OMS ne saurait être tenue pour responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

Table des matières

Préface	vi
Remerciements.....	vii
Abréviations, sigles et acronymes.....	viii
Glossaire et termes utiles	ix
1. Introduction	1
1.1 La mouche noire	2
1.2 Importance de <i>Simulium</i> spp en matière de santé.....	3
1.3 Prévalence de l'onchocercose humaine	5
1.4 Répartition de l'onchocercose	5
1.5 Cycle vital d' <i>Onchocerca volvulus</i> et pathologie de l'onchocercose humaine.....	6
1.6 Charge de morbidité de l'onchocercose	10
1.7 De la lutte contre l'onchocercose à son élimination	12
1.8 Bien-fondé d'un manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose.....	13
2. Caractéristiques générales et cycle vital des simulies	17
2.1 Classification du genre <i>Simulium</i>	18
2.2 Caractéristiques générales des simulies adultes	19
2.3 Cycle vital des simulies	20
3. Gîtes larvaires des simulies vectrices	25
3.1 Introduction	26
3.2 Chaque gîte larvaire a une population de mouches distincte.....	26
3.3 Autres types de gîtes larvaires en Afrique	31
3.4 Exemples de gîtes larvaires dans la Région des Amériques.....	32
3.5 Caractéristiques physicochimiques des gîtes larvaires	33
3.6 Autres facteurs importants	34
3.7 Récapitulatif	36
4. Identification des simulies vectrices en Afrique	37
4.1 Introduction	38
4.2 Comment reconnaître que les spécimens collectés sont des œufs, larves, nymphes ou imagos de Simuliidae et non d'autres insectes.....	40
4.3 Comment reconnaître que les spécimens collectés sont des larves, nymphes ou imagos appartenant au complexe <i>Simulium damnosum</i> et au groupe <i>Simulium neavei</i> et non à d'autres espèces de simulies.....	43
5. Sélection des sites d'étude et mobilisation communautaire pour l'évaluation entomologique.....	59
5.1 Introduction	60
5.2 Critères de sélection des sites pour l'évaluation entomologique.....	62
5.3 Composition de l'équipe	62
5.4 Sélection des sites pour l'évaluation entomologique.....	63
5.5 Mobilisation communautaire.....	66

6. Prospection des gîtes larvaires de la similie	69
6.1 Introduction	70
6.2 Exigences pour la prospection des similies vectrices.....	70
6.3 Cartographie des gîtes larvaires de <i>Simulium</i> spp	71
6.4 Méthodes de prospection des similies.....	75
6.5 Méthodes spécifiques de prospection du groupe <i>Simulium neavei</i>	76
7. Collecte et conservation de larves de similies pour l'identification cytotaxonomique	79
7.1 Introduction	80
7.2 Trouver et choisir les larves de similies pour la cytotaxonomie.....	80
7.3 Collecte et conservation des larves de similies.....	81
8. Collecte et capture sur appât humain des similies femelles pour l'évaluation entomologique	87
8.1 Capture sur appât humain	88
8.2 Sélection des captureurs sur appât humain.....	88
8.3 Sélection des sites pour la capture sur appât humain	89
8.4 Protocoles pour la capture sur appât humain.....	89
8.5 Pièges à fenêtre Esperanza pour la collecte des similies.....	92
8.6 Protocoles pour le déploiement du piège à fenêtre Esperanza sur le terrain	94
8.7 Tri et identification des mouches	96
8.8 Renseignement des fiches et formulaires sur le terrain	97
9. Dissection des similies femelles pour déterminer les taux de parité et d'inféctivité	99
9.1 Introduction	100
9.2 Identification des mouches à disséquer.....	100
9.3 Dissection des similies femelles.....	100
9.4 Âge physiologique des similies femelles.....	101
9.5 Détermination de l'inféctivité des mouches	102
9.6 Autres parasites parfois trouvés dans les similies vectrices.....	103
9.7 Tenue des dossiers de dissection.....	104
10. Préparation des similies femelles pour l'analyse poolée par PCR (PCR poolée) et interprétation des résultats pour l'élimination de l'onchocercose	105
10.1 Utilisation de la PCR poolée pour déterminer l'inféctivité des similies	106
10.2 Principe de la PCR poolée	106
10.3 Préparation des similies pour la PCR poolée.....	107
10.4 Extraction de l'ADN et analyse poolée.....	109
10.5 Interprétation des résultats de l'analyse poolée à l'aide d'un logiciel spécialisé.....	109
11. Détermination et interprétation des indices de transmission dans l'élimination de l'onchocercose	111
11.1 Élimination de l'onchocercose.....	112
11.2 Indices de transmission utilisés avant la PCR	113
11.3 Indices de transmission des similies dans le cadre de l'élimination de l'onchocercose	116
12. Lutte contre les similies dans les programmes d'élimination de l'onchocercose	117
12.1 Introduction	118
12.2 Informations décisionnelles pour la mise en œuvre et les objectifs de la lutte antivectorielle.....	119
12.3 Informations de référence sur l'utilisation des larvicides.....	120

12.4	Prérequis pour une lutte antivectorielle réussie.....	120
12.5	Caractéristiques d'un bon larvicide.....	121
12.6	Larvicides adaptés	122
12.7	Méthodes d'utilisation des larvicides.....	122
12.8	Traitements larvicides au sol des gîtes larvaires.....	123
12.9	Surveillance de la résistance des larves aux insecticides	128
12.10	Lutte antivectorielle à base communautaire.....	130
Références bibliographiques.....		132
Lectures complémentaires.....		139
Annexe 1. Clés taxonomiques pour les nymphes de Simuliidae africaines		141
Annexe 2. Illustrations des filaments respiratoires (branchies) de nymphes de simulies africaines.....		152

Préface

L'entomologie médicale est essentielle à la lutte contre les maladies tropicales négligées et à leur élimination, en particulier l'onchocercose. Il existe cependant une pénurie d'entomologistes médicaux dans le monde, en particulier dans les pays les plus touchés par ces maladies où les ressources sont rares et où le secteur de l'entomologie médicale n'offre que peu d'opportunités d'emploi prometteuses. La formation d'un plus grand nombre d'agents de santé et de terrain dans le domaine de l'entomologie demeure une lacune critique, comme le souligne la feuille de route pour les maladies tropicales négligées 2021-2030.

Le présent manuel est une nouvelle ressource pour renforcer les capacités des scientifiques dans la lutte contre l'onchocercose. Il représente un outil fondamental dans la dernière étape à l'approche de l'élimination de l'onchocercose, à laquelle des évaluations et une surveillance entomologiques seront nécessaires dans tous les pays d'endémie afin de parvenir à vérifier l'élimination.

Remerciements

L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) tient à remercier les nombreuses personnes et institutions qui ont contribué à l'élaboration de ce manuel. En particulier, l'OMS remercie la contribution des données du South African National Biodiversity Institute (SANBI) et du Natural History Museum (Londres, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord). Pour ce dernier, tous les efforts ont été faits pour identifier les détenteurs de droits d'auteur sur les images, et toute erreur sera rectifiée dans les prochaines éditions de ce manuel.

La version initiale de ce manuel a été rédigée par le professeur B.E.B. Nwoke (Université de l'État d'Imo, Owerri, Nigéria), le professeur K.N. Opara (Université d'Uyo, État d'Akwa Ibom, Nigéria), le professeur H. Mafuyai (Université de Jos, Nigéria) et le Dr M.A. Adeleke (Université de l'État d'Osun, Osogbo, Nigéria). Un examen critique suivi de révisions appropriées a été réalisé par un groupe d'experts réunis par l'OMS. Les membres du panel étaient M.A. Adeleke (Université de l'État d'Osun, Osogbo, Nigéria), D. Boakye (The End Fund, New York, États-Unis d'Amérique), P. Cantey (Président, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, États-Unis d'Amérique), R. Cheke (Université de Greenwich, Chatham, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord), E. Cupp (rédacteur en chef du comité, Université d'Auburn, Auburn, États-Unis d'Amérique), A. Elaagip (Université de Khartoum, Khartoum, Soudan), P. Enyong (École de médecine tropicale de Liverpool, Liverpool, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord), M.E. Grillet (Université du Venezuela, Caracas, République bolivarienne du Venezuela), A. Hendy (Université du Texas, branche médicale, Galveston, États-Unis d'Amérique), A. Kalinga (Institut national de recherche médicale, Dar es Salaam, République-Unie de Tanzanie), L. Koala (Institut de recherche en sciences de la santé, Bobo Dioulasso, Burkina Faso), A. Krueger (Université Justus-Liebig, Giessen, Allemagne), T. Lakwo (Ministère de la Santé, Kampala, Ouganda), H. Mafuyai (Université de Jos, Jos, Nigéria), B.E.B. Nwoke (Université de l'État d'Imo, Owerri, Nigéria), K.N. Opara (Université d'Uyo, État d'Akwa Ibom, Nigéria), R. Post (London School of Hygiene and Tropical Medicine, Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord), A. Renz (Université de Tübingen, Tübingen, Bade-Wurtemberg, Allemagne), M. Rodríguez-Pérez (Institut national polytechnique, Mexico, Mexique), Y. Sodahlon (The Task Force for Global Health, Decatur, États-Unis d'Amérique), S. Traoré (Programme africain de lutte contre l'onchocercose, Ouagadougou, Burkina Faso), T. Unnasch (Université de Floride du Sud, Tampa, États-Unis d'Amérique), R. Velayudhan (Secrétariat de l'OMS), R. Yadav (Secrétariat de l'OMS) et M.D. Wilson (Université du Ghana, Legon, Ghana).

Les membres suivants du personnel du programme mondial de lutte contre les maladies tropicales négligées de l'OMS ont contribué à la finalisation de ce manuel (classés par ordre alphabétique): Maria Rebollo Polo, Dieudonné Sankara et Raman Velayudhan.

La préparation de cette publication a été facilitée par une subvention du Programme de donation de Mectizan®.

Abréviations, sigles et acronymes

TAP	taux annuel de piqûres
APOC	Programme africain de lutte contre l'onchocercose
PAT	potentiel annuel de transmission
DC	distributeur communautaire
IC	intervalle de confiance
EWT	piège à fenêtre Esperanza
L3	troisième étape larvaire d' <i>Onchocerca volvulus</i>
TMP	taux mensuel de piqûres
AMM	administration de masse de médicaments
MTN	maladie tropicale négligée
OCP	Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest
OEPA	Programme d'élimination de l'onchocercose pour les Amériques
PCR	réaction en chaîne par polymérase
CV	captureur (de vecteur) villageois

Glossaire et termes utiles

Les définitions ci-dessous s'appliquent aux termes utilisés dans le présent manuel. Selon le contexte, ceux-ci peuvent avoir des significations différentes. Certains termes/définitions sont reproduits à partir de la référence 1.

Adénite : inflammation d'une glande ; souvent utilisé sous la forme lymphadénite, qui se rapport à l'inflammation d'un ganglion lymphatique

Antérieur : devant, extrémité avant

Antigène : substance étrangère qui induit une réponse immunitaire

Basitarse : cinquième segment à partir de l'extrémité de la jambe

Capillaires : vaisseaux sanguins les plus fins ; beaucoup se situent juste sous la surface de la peau

Capture sur appât humain : procédé de collecte de simules anthropophiles dans lequel des volontaires sont utilisés comme appât

Carapace : bouclier dorsal chitineux de crustacés

Carte topographique : carte détaillée d'un territoire, avec les positions géographiques et élévations des éléments naturels (rivières, lacs, montagnes, marécages) et artificiels

Chromosome : structure linéaire dans le noyau d'une cellule composée de protéines et d'ADN, qui contient des informations génétiques

Clé de détermination : clé dichotomique dont la séquence et la structure des étapes d'identification sont fixées de sorte qu'à chaque étape décisionnelle, deux alternatives sont proposées, chacune menant à un résultat ou à un choix supplémentaire

Cocon : structure en soie tissée recouvrant une nymphe

Cycle gonotrophique : intervalle séparant le développement des œufs et la ponte, qui s'achève après qu'une femelle *Simulium* spp adulte a pris un repas de sang, produit des œufs, trouvé un site de ponte dans un ruisseau ou une rivière et pondus ses œufs. Elle cherche alors un autre repas de sang, commençant ainsi un autre cycle gonotrophique. Ainsi, la durée d'un cycle gonotrophique est l'intervalle entre les pontes successives.

Cyto-espèce : espèce morphologiquement similaire qui se différencie par ses caractéristiques cytologiques, comme l'alternance des bandes sur les chromosomes

Cytotaxonomie : étude d'espèces selon leurs caractéristiques cytologiques (cellulaires)

Dichoptique : ayant des yeux séparés au sommet de la tête

Diurne : actif pendant la journée

Dorsal : face supérieure ou arrière

Échancrure ventrale : ouverture ventrale non sclérifiée de la capsule céphalique larvaire

Évaluation entomologique : collecte et suivi de données temporelles et géographiques sur les simulies vectrices pour évaluer les progrès dans la lutte contre l'onchocercose ou son élimination

Filament : fil très fin

Filaments respiratoires : appareil branchial en forme de filament chez la nymphe, qui agrandit la surface du système trachéal pour capter l'oxygène dissous dans l'eau

Gîte larvaire : zone dans une rivière qui est favorable au développement de larves et nymphes d'espèces de simulies

Gravide : se dit d'une femelle pleine d'œufs à maturité ou presque

Histoblaste : cellule ou groupe de cellules pouvant former des tissus

Holoptique : dont les yeux sont contigus, et de se fait se rejoignent au sommet de la tête

Hyperendémique : fortement endémique, impliquant une prévalence de l'infection de 60 % ou plus

Hypostome : plaque dentée chitinisée médiane en forme de cône de la capsule céphalique larvaire, située à la base ventrale des pièces buccales

Imago : chez les insectes, le terme imago désigne le stade final (adulte) d'un individu dont le développement se déroule en plusieurs phases

Ivermectine : antiparasitaire à large spectre d'activité, initialement utilisé en médecine vétérinaire

Labrum : « lèvre supérieure » d'un insecte qui aide à maintenir les pièces buccales en place

Larvicide : type d'insecticide conçu pour tuer insectes au stade larvaire

Mectizan® : dénomination commerciale de l'ivermectine enregistrée pour une utilisation chez l'homme en Afrique pour lutter contre l'onchocercose

Membrane : tissu organique mince

Mermithidé : ver nématode parasite de la famille Mermithidae qui infecte souvent les stades aquatiques (préimaginaux) de *Simulium* spp. L'imago (adulte) du genre *Isomermis*, qui parasite essentiellement le complexe *S. damnosum*, est aquatique. Les simulies (*Simulium* spp) sont infectées aux stades préimaginaux et les larves sont souvent transmises à la mouche adulte. Ainsi, leur présence chez une femelle adulte de *S. damnosum* indique en général, mais pas toujours, que la mouche est nullipare.

Microfilaires : premier stade larvaire d'*O. volvulus*, elles sont excrétées par les vers femelles et résident dans la peau de l'hôte humain puis sont absorbées par les *Simulium* vecteurs femelles piqueuses

Mobilisation communautaire : création de partenariats avec les secteurs d'une communauté afin de résoudre des problèmes urgents

Morphoespèce : espèce identifiée par ses caractères morphologiques externes

Naphtalène, tert-hexadecyl mercaptan : composants chimiques qui sont attractants pour *S. damnosum sensu stricto* et utilisés dans les pièges à fenêtre Esperanza

Nullipare : se dit d'une femelle n'ayant pas pris un repas de sang ni développé d'œufs, et n'étant donc pas infectée par *O. volvulus*

Nymphe : stade du développement intermédiaire entre la larve et l'imago (adulte).

Onchodermatite : irritation ou inflammation cutanée due à l'onchocercose

Oued : vallée ou canal le plus souvent à sec, sauf pendant la saison des pluies

Pare : se dit d'une femelle ayant pris au moins un repas de sang et développé et pondu des œufs, qui est susceptible d'être infectée par *O. volvulus*

Perles aromatiques en plastique : perles disponibles dans le commerce pouvant être imprégnées de composés chimiques pour attirer les simulies

Phorétique : se dit d'un organisme vivant transporté par un autre mais sans relation parasitaire

Prospection : dans le domaine de l'écologie de *Simulium*, se rapporte à la recherche des stades préimaginaux de simulies (œufs, larves, nymphes) dans les gîtes larvaires potentiels

Région frontale : espace entre les yeux au sommet de la tête

s.s./s.l. : *sensu stricto* (sens strict ou étroit)/*sensu lato* (sens large ou étendu)

Scutum (aussi Mésonotum) : face dorsale du mésothorax

Spermatophore : structure mucilagineuse contenant du sperme qui est transféré à la femelle lors de la copulation

Tanglefoot® : colle utilisée pour enduire les deux surfaces du piège à fenêtre Esperanza

Taxon : entité conceptuelle taxonomique de base qui se rapporte en général au genre et à l'espèce

Tergite : plaque chitineuse dure sur la surface dorsale

Touffe alaire : groupe proéminent de soies situé sur l'aile au niveau de la nervure de la tige de la veine radiale

Traitement par l'ivermectine sous directives communautaires (TIDC) : traitement régulier et planifié par l'ivermectine des membres du village par des volontaires locaux, permettant ainsi aux communautés d'assumer la responsabilité de la livraison d'ivermectine

Tubercule : petite bosse de forme et de taille variable

Tubes de Malpighi : chez l'insecte, tubules du tube digestif impliqués dans l'excrétion et l'osmorégulation

Turbidité/turbide : teneur d'un fluide en matières en suspension qui le rendent opaque ou épais

Vasodilatateur : substance qui dilate les vaisseaux sanguins, c'est-à-dire augmente leur lumière

Village de première ligne : village n'ayant aucune autre agglomération entre son emplacement et le gîte larvaire de vecteurs le plus proche (< 10 km)

Zone de transmission : zone géographique dans laquelle la transmission d'*O. volvulus* se fait par des vecteurs se reproduisant localement; peut être considérée comme une unité écologique et épidémiologique naturelle pour l'intervention

Zoophile : désigne un organisme attiré spécifiquement par les hôtes animaux ou qui pique les animaux

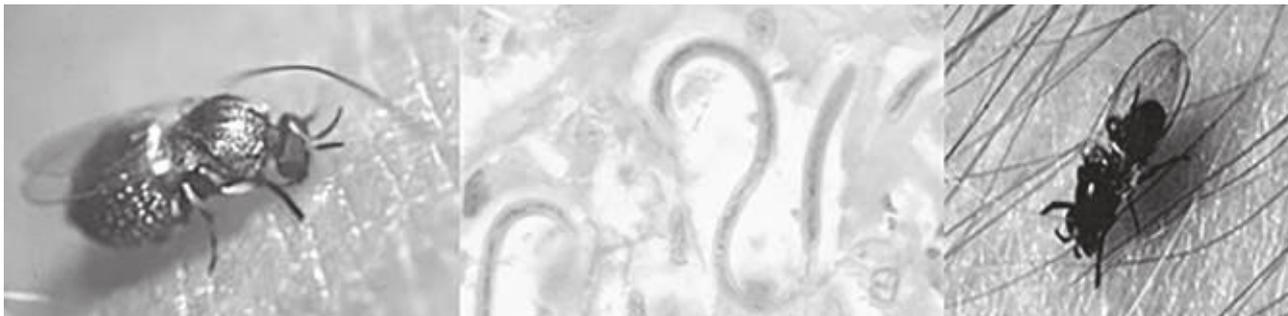
Chapitre 1.

Introduction

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 1

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre ce qu'est la simulie ;
- apprécier l'importance des simulies pour la santé publique ;
- décrire l'onchocercose humaine (« cécité des rivières ») ;
- apprécier l'impact de l'onchocercose sur le plan socio-économique et pour la santé publique ;
- comprendre pourquoi l'onchocercose doit être éliminée ;
- décrire le processus de passage d'une stratégie de lutte à l'élimination de l'onchocercose ; et
- expliquer pourquoi un manuel d'entomologie pour l'élimination de l'onchocercose est nécessaire.



1.1 La mouche noire

Les mouches noires (*Simulium*) sont un genre de la famille des Simuliidae. Le nom commun est la simulie, et ce terme sera utilisé dans cette publication selon la notation entomologique standard, indiquant les membres de l'ordre des diptères (ou vraies mouches). La famille comprend plus de 2300 espèces, le genre *Simulium* étant le plus important (plus de 1800 espèces). Ces insectes sont habituellement de petits moucherons noirs ou gris, avec des pattes et des antennes courtes (Fig. 1.1).

Figure 1.1. Simulie femelle (*Simulium damnosum*) prenant un repas de sang.



Source: United States Joint Pathology Center

Les mâles adultes se nourrissent de nectar, tandis que les femelles de la plupart des espèces se nourrissent de nectar et prennent un repas de sang avant de pondre leurs œufs. Les simulies ont des pièces buccales courtes et les femelles sont telmophages, c'est-à-dire qu'elles utilisent ces mandibules pour lacérer les capillaires superficiels de la peau et créer une mare de sang à partir de laquelle elles prélèvent leur repas (Fig. 1.1). Leur salive, qui contient des hyaluronidases (une enzyme qui décompose l'acide hyaluronique et l'hyaluronane pour faciliter la propagation des sécrétions salivaires lors de l'alimentation en sang) et un mélange d'anticoagulants puissants (qui inhibent ou retardent la coagulation du sang), de vasodilatateurs et de composés immunomodulateurs (composé spécifique ou groupes de composés modifiant la réponse immunitaire), est sécrétée dans la plaie de la piqûre, empêchant l'agrégation plaquettaire et la coagulation lors de l'alimentation en sang et de l'ingestion. Ces piqûres peuvent provoquer des lésions tissulaires localisées et même une anémie si le nombre de mouches se nourrissant est suffisamment élevé. La sélection de l'hôte varie selon l'espèce, différentes espèces préférant différentes sources d'hôtes vertébrés pour leurs repas sanguins. Les simulies se nourrissent pendant la journée, de préférence lorsque la vitesse du vent est faible.

Les espèces qui sont d'importance pour la santé publique appartiennent à quatre genres, *Simulium*, *Prosimulium*, *Austrosimulium* et *Cnephia*, qui peuvent piquer les humains, tandis que d'autres espèces préfèrent se nourrir d'autres mammifères ou d'oiseaux. Le genre *Simulium* est le plus répandu dans le monde et comprend des vecteurs de plusieurs agents pathogènes, dont *Onchocerca volvulus*, un nématode filaire qui provoque la cécité des rivières en Afrique, au Yémen et dans les Amériques. Parmi des exemples de vecteurs importants on citera le complexe d'espèces *S. damnosum* et le groupe d'espèces *S. neavei* en Afrique et au Yémen (1), et *S. ochraceum*, *S. metallicum*, *S. exiguum* et *S. guianense* dans les Amériques (2).

1.2 Importance de *Simulium* spp en matière de santé

1.2.1 Nuisances et effets préjudiciables non liés à *O. volvulus*

Différentes espèces de simulies dans différentes parties du monde affectent la santé humaine et animale de plusieurs manières. Outre la transmission d'agents pathogènes viraux, protozoaires et nématodes, les piqûres de certaines espèces provoquent une perte de sang ou rendent les humains et les animaux vulnérables à diverses infections, tandis que celles d'autres espèces peuvent être cause d'une nuisance intolérable.

Les piqûres de simulies entraînent parfois des réactions systémiques graves caractérisées par des maux de tête, de la fièvre et des nausées ainsi qu'une adénite. Cette condition, parfois appelée « fièvre de la mouche noire », ne dure habituellement pas plus de 48 heures et ne survient qu'après un grand nombre de piqûres. Un nombre élevé de piqûres autour des yeux d'une personne sensible peut provoquer un gonflement des tissus environnants et complètement entraver la vision. En présence de simulies hyper abondantes, on comprend bien qu'il soit psychologiquement intolérable de faire face à des essaims de mouches femelles atterrissant sans cesse sur les cheveux et s'insinuant sous les vêtements, dans les narines et les oreilles avant d'être inhalées. Cette situation peut aussi dissuader les touristes d'entrer dans des zones infestées de simulies. De plus, un nombre extrême de piqûres de simulies et la nuisance associée peuvent réduire considérablement le gain de poids chez le bétail, la production de lait des vaches laitières et la production d'œufs des poules.

De nombreuses espèces sont zoophiles et transmettent aux animaux des agents pathogènes. Quelques espèces de *Simulium* ont été identifiées comme vecteurs d'espèces d'*Onchocerca* d'origine non humaine. Par exemple, en Angleterre, *S. ornatum* est un vecteur d'*O. gutturosa* chez les bovins, alors qu'*O. ochengi* est un parasite bovin commun en Afrique transmis par les membres du complexe d'espèces *S. damnosum*.

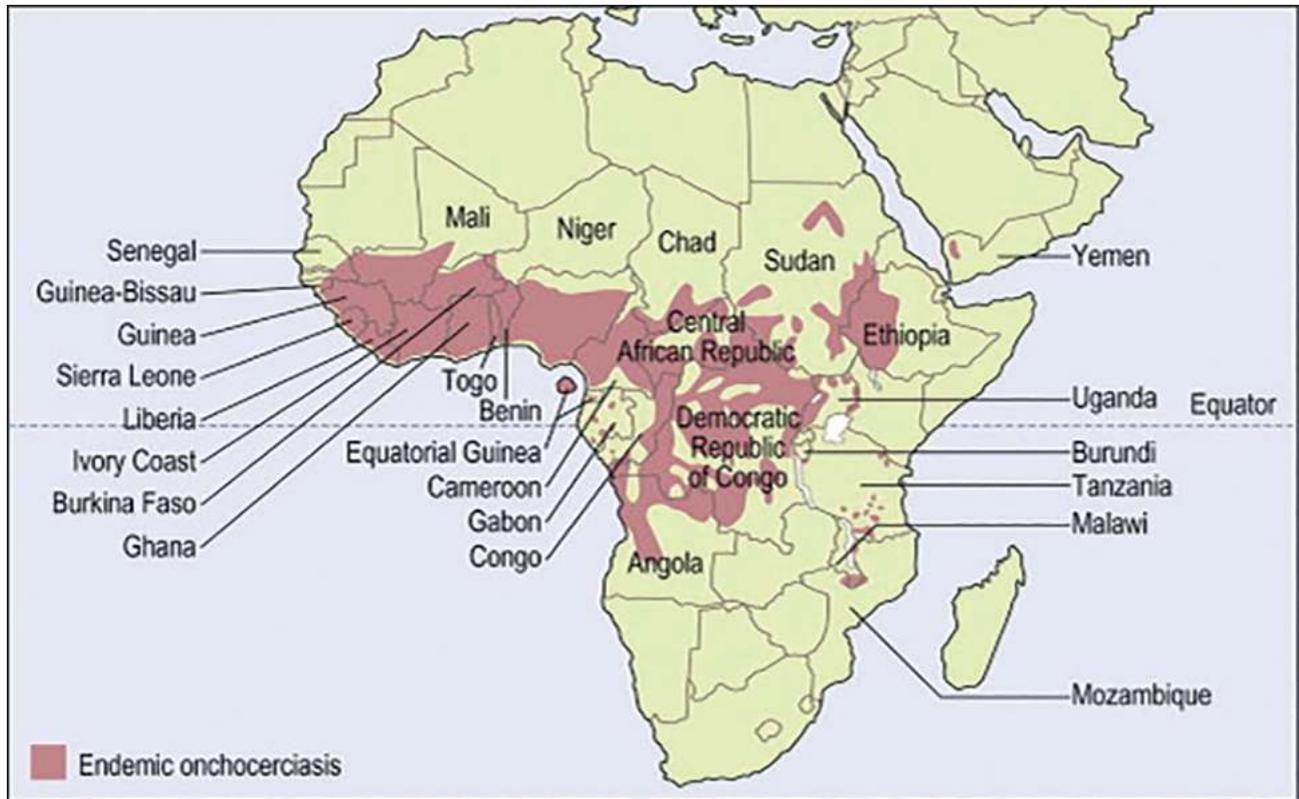
D'autres espèces de simulies transmettent des parasites protozoaires à divers hôtes aviaires. Ces parasites, qui comprennent des espèces de *Leucocytozoon* et *Trypanosoma avium*, peuvent affecter un grand nombre de populations de volailles sauvages et domestiques. Plusieurs espèces de *Simulium* sont également des vecteurs compétents du virus de la stomatite vésiculeuse, un virus à ARN qui infecte les chevaux, les bovins et les porcs dans les Amériques. L'infection par ce virus crée des lésions qui simulent celles de la fièvre aphteuse; il faut donc rapidement effectuer un diagnostic différentiel pour prévenir toute épizootie.

1.2.2 Transmission d'*Onchocerca volvulus*

L'aspect le plus important de la relation entre les humains et les simulies est leur rôle en tant que vecteurs du parasite nématode *O. volvulus*. L'onchocercose humaine est une maladie parasitaire chronique qui affecte des millions de personnes sur quatre continents (Figures 1.2, 1.3).

Afrique: L'onchocercose humaine était endémique principalement dans les zones situées entre 15° N et 14° S. Plus de 99 % des personnes actuellement menacées par *O. volvulus* vivent dans 31 pays d'Afrique subsaharienne (Fig. 1.2).

Figure 1.2. Onchocercose – Pays d'endémie en Afrique et dans la péninsule arabique (Yémen).

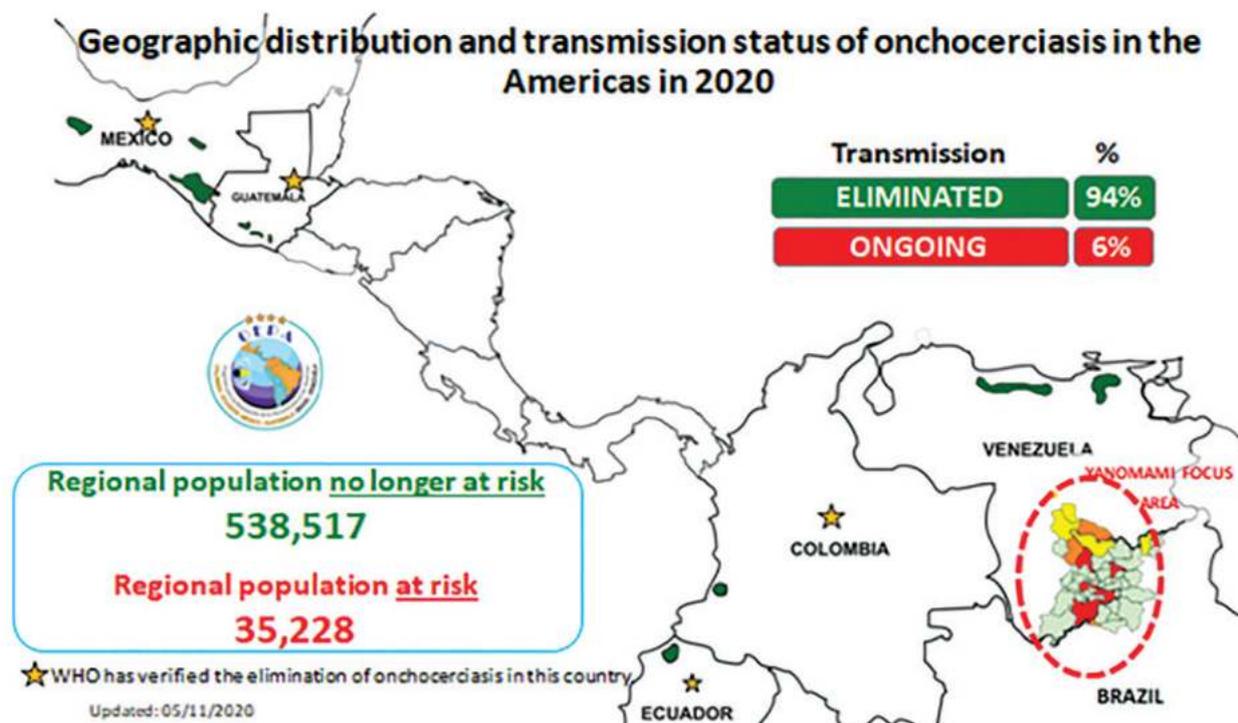


Noter que le Soudan est maintenant divisé en Soudan et Soudan du Sud, et que la Tanzanie est la République-Unie de Tanzanie, avec Zanzibar.

Péninsule arabique: L'onchocercose est endémique dans la péninsule arabique (Yémen), notamment dans la région de Taiz., où le vecteur est *S. rasyani*, une espèce du complexe *S. damnosum*. Au Yémen, l'onchocercose est confinée aux zones proches des oueds permanents dont la hauteur d'eau varie de 300 m à 1200 m. Ce foyer endémique est connu depuis de nombreuses années et présente des caractéristiques cliniques uniques, notamment la survenue d'une forme atypique et grave d'onchodermatite, dite *sowda* ou onchodermatite réactive. La lutte nationale contre cette maladie a commencé en 1992 sous la forme d'un programme de traitement de cas individuels, en administrant de l'ivermectine aux personnes se présentant avec des signes d'onchodermatite réactive. À titre de projet pilote, une campagne d'administration de masse de médicaments (AMM) a été lancée en 2016, puis intensifiée en 2018 à mesure que le programme du Yémen se rapprochait de l'objectif d'élimination.

Les Amériques: L'onchocercose humaine a été initialement détectée dans 13 foyers répartis dans six pays des Amériques (Fig. 1.3), principalement situés dans les plantations de café en haute altitude (150 à 500 m) ou dans les jungles des plaines. Avant le lancement du programme régional de lutte – le Programme pour l'élimination de l'onchocercose dans les Amériques (OEPA) – ces foyers se répartissaient depuis le Mexique dans le nord jusqu'à la frontière du Brésil et de la République bolivarienne du Venezuela dans le sud. *S. ochraceum* et *S. metallicum* étaient alors les vecteurs primaires les plus importants dans la région. À l'heure actuelle, l'onchocercose est endémique dans un seul foyer (la zone Yanomami) qui chevauche la frontière entre ces deux pays.

Figure 1.3. Ancienne répartition géographique de l'onchocercose dans les Amériques et situation actuelle, 2020. Pour des détails concernant les foyers actifs, consulter le Relevé épidémiologique hebdomadaire 2020;95:484–7.



Source: Le Carter Center, Atlanta (GA), États-Unis

1.3 Prévalence de l'onchocercose humaine

Avant le lancement des programmes de lutte et d'élimination, on estime que 20 à 40 millions de personnes étaient infectées, dont 350 000 étaient aveugles et 500 000 malvoyantes; plus de 6 millions de personnes étaient atteintes de diverses maladies cutanées d'origine onchocerquienne (3), et environ 1,6 % souffraient de complications lymphatiques (2). En 2017, l'OMS a estimé que 203 millions de personnes étaient à risque et 20,9 millions étaient infectées par *O. volvulus*, 14,6 millions d'entre elles étant atteintes de maladies cutanées et 1,15 million présentant une déficience visuelle (4).

1.4 Répartition de l'onchocercose

La répartition locale de l'onchocercose est déterminée par l'écologie et le comportement des simuliés vectrices. Un aspect clé est la distance de vol efficace des femelles à la recherche d'un repas sanguin. Comme il est peu probable que cette portée dépasse 20 km, le taux de transmission parasitaire le plus élevé se situe dans un rayon de 20 km des gîtes larvaires. Les communautés les plus gravement touchées se trouvent presque toujours dans ce rayon. De plus, l'onchocercose se produisant à proximité des rivières, de nombreuses communautés rurales endémiques croient que la maladie est provoquée par les dieux des fleuves. L'origine du terme « cécité des rivières » utilisé pour décrire cette maladie reste inconnue, mais les observations faites par le Dr Jean Hissette en 1930 dans des foyers le long des rivières Sankuru et Uele au Congo belge confirmaient la

relation géographique entre la pathologie oculaire provoquée par *O. volvulus* et les rivières. Dans les Amériques, l'onchocercose humaine est connue sous le nom de « maladie de Robles », d'après le médecin guatémaltèque qui a fait le lien entre la présence du parasite à la cécité humaine.

1.5 Cycle vital d'*Onchocerca volvulus* et pathologie de l'onchocercose humaine

Les vers adultes (mâles et femelles) vivent principalement dans des nodules sous-cutanés (Figures 1.4, 1.5A) où les femelles produisent, durant 9 à 14 ans de fécondité, des millions d'embryons microscopiques et mobiles appelés microfilaries (Fig. 1.5B). Un nodule onchocercien moyen mesure de 0,5 à 2 cm et peut souvent être palpé (Fig. 1.5A); cependant, certains nodules peuvent atteindre un diamètre de plus de 6 cm et d'autres peuvent se situer plus en profondeur dans le corps et ne pas être palpables. Dans la plupart des pays africains, les microfilaries d'*O. volvulus* sont dans les canaux lymphatiques cutanés autour de la région pelvienne jusqu'au haut du bras, alors que dans les Amériques, on les retrouve plus souvent dans le thorax et le haut du corps, y compris la tête.

Figure 1.4. Cycle vital d'*Onchocerca Volvulus*.

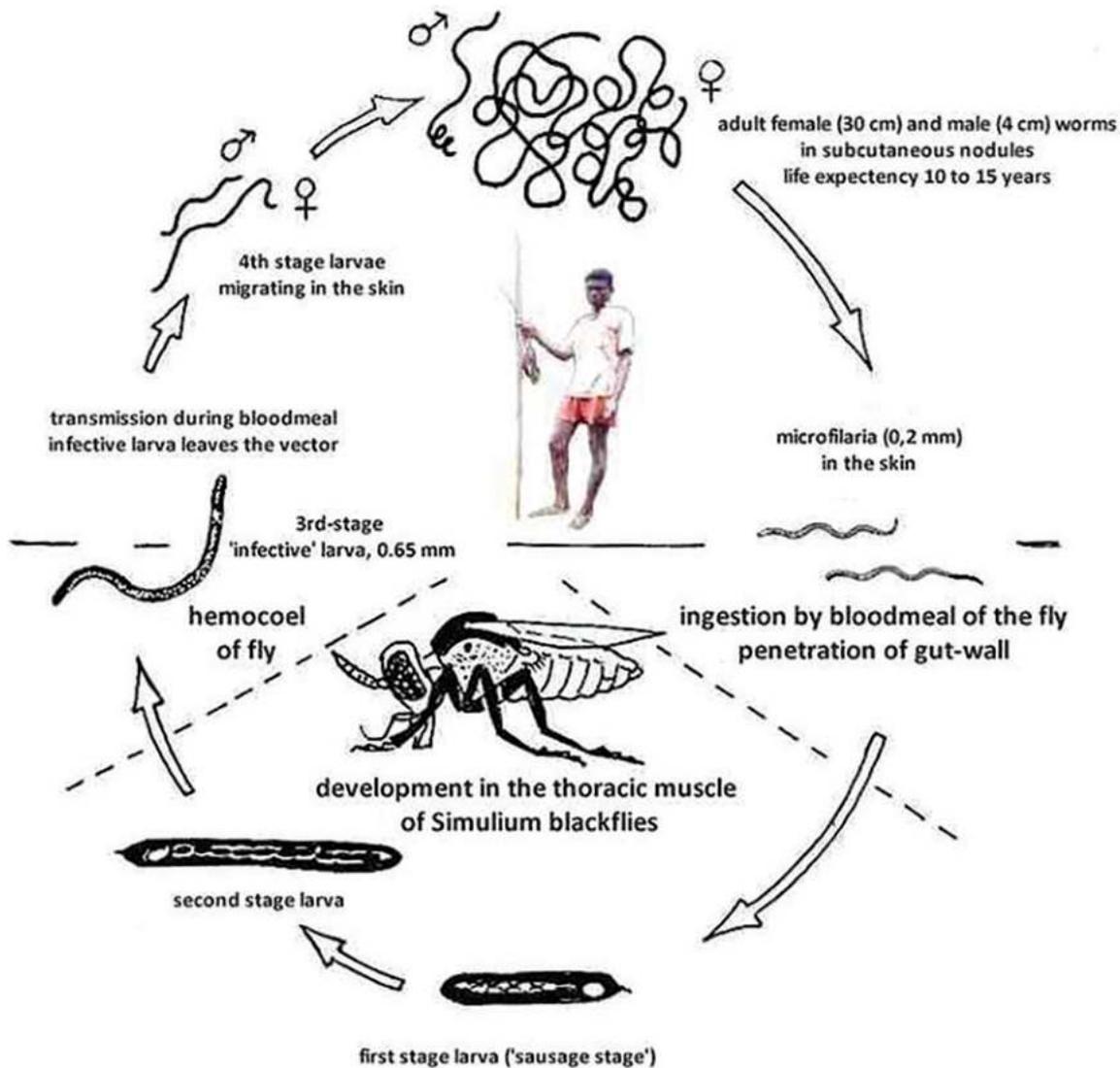


Figure 1.5. A. Nodule onchocerquien palpé dans le haut du dos. B. Microfilaire d'*O. volvulus*. Noter le manque de développement interne complexe. Ce stade est un embryon mobile qui nécessite une similie comme hôte intermédiaire.



Sources: A. Joint Pathology Center des États-Unis; B. Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis

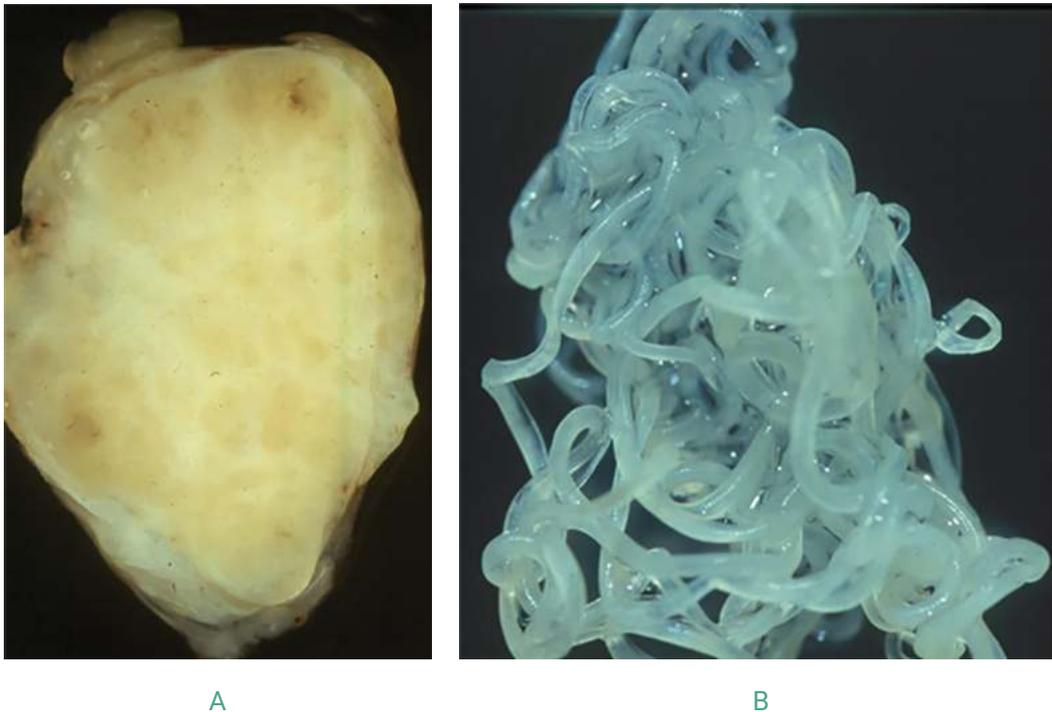
Les humains sont le seul hôte vertébré d'*O. volvulus*, c'est à dire qu'il n'existe aucun réservoir animal et que le parasite passe par plusieurs stades de développement chez l'homme et chez la similie. Par intermittence, les mouches femelles se nourrissent de sang, dont elles ont besoin pour développer chaque lot d'œufs. Lorsque les mouches femelles piquent un sujet infecté, elles ingèrent les microfilaries de la peau. Une fois à l'intérieur de la similie, les microfilaries traversent le tube digestif, parviennent à l'intestin moyen, et pénètrent ensuite dans l'hémocèle (cavité corporelle) où elles infectent la musculature thoracique de la similie et poursuivent leur développement. Dans les Amériques, plusieurs espèces vectrices possèdent une armature cibarienne: une série de structures chitineuses dentelées ou spiculées dans l'intestin antérieur, qui élimine les microfilaries, alors que d'autres espèces secrètent une membrane péritrophique épaissie pour prévenir ou limiter l'infection. Une fois dans les muscles du vol, les microfilaries survivantes muent deux fois (L1 à L2, L2 à L3) et deviennent infectantes pour l'homme. Certaines des L3 se frayent un chemin depuis la musculature thoracique jusqu'aux pièces buccales (comme la trompe, une structure allongée en forme de tube conçue pour aspirer les liquides), à partir desquelles elles sont transmises à l'hôte humain lors d'un repas de sang ultérieur. La partie vectorielle du cycle vital est achevée en 7 à 12 jours, selon la température de l'air. Suite à l'infection, le parasite mue deux fois chez l'hôte humain (L3 à L4, L4 au stade juvénile), puis mûrit pour former un ver adulte, se développant sur une période relativement longue (12 à 16 mois) avant d'atteindre la maturité (le stade d'un parasite chez lequel l'infection est détectable).

Les signes d'une infection par *O. volvulus* sont la présence de nodules contenant des vers adultes et la présence de microfilaries dans la peau.

1.5.1 Nodules onchocerquiens

Dans l'onchocercose, la plupart des modifications tissulaires qui contribuent aux manifestations cliniques semblent être associées à la mort des microfilaries plutôt qu'à la présence de vers adultes; cependant, ces derniers s'entourent de tissus sous-cutanés pour former les nodules onchocerquiens caractéristiques (Fig. 1.6A). Chaque nodule contient un certain nombre de longs vers femelles adultes (Fig. 1.6B) ainsi que des vers mâles beaucoup plus petits. Les microfilaries sont produites par le ver femelle et s'échappent dans la peau.

Figure 1.6. A. Nodule présentant des vers adultes incrustés dans le tissu conjonctif. B. Masse de vers femelles dans le nodule, révélée après digestion dans la collagénase.



Sources : A, B. United States Joint Pathology Center

1.5.2 Microfilaires

Le stade microfilaire du parasite se déplace à travers le corps par un mouvement mécanique de vrille tout en sécrétant de l'élastase (une enzyme qui décompose l'élastine et d'autres protéines) et d'autres enzymes pour digérer la peau et créer des voies. La vaste majorité des microfilaires (qui ne sont pas ingérées par une simule) finissent par mourir et créent un ensemble complexe de manifestations pathologiques pouvant inclure une atteinte cutanée onchocerquienne (onchodermatite), une lymphadénite (provoquant le syndrome de « l'aine pendante »), des lésions oculaires (kératite ponctuée et sclérosante) et des manifestations systémiques.

1.5.3 Onchodermatite

L'onchodermatite débute lorsque les microfilaires dégènèrent dans le derme. Ceci s'accompagne d'une inflammation, avec la dégranulation des granules éosinophiliques sur la cuticule de la microfilaire. Certaines personnes atteintes d'onchocercose peuvent présenter une peau nette, alors que d'autres souffrent d'un prurit intense (démangeaison), qui peut évoluer vers une réaction inflammatoire. L'onchodermatite se présente sous diverses formes : une atteinte cutanée grave avec des lésions lymphatiques sont plus répandues dans la forêt tropicale qu'en zone de savane, tandis que les lésions oculaires et la cécité sont plus graves en savane (6).

1.5.4 Complications lymphatiques associées à l'onchocercose humaine

Chez les patients qui présentent une atteinte lymphatique, les changements au niveau des ganglions lymphatiques peuvent progresser. Les antigènes libérés par les microfilaires entraînent un dépôt de complexes

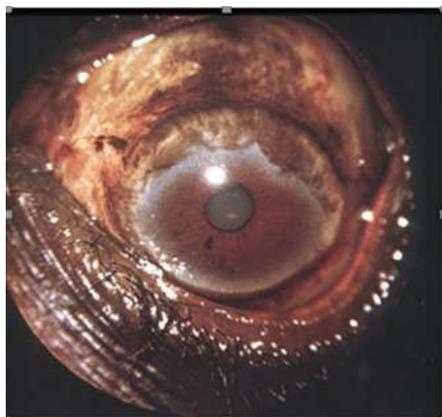
immuns dans les tissus. Avec le temps, le syndrome de « l'aine pendante » et d'autres déformations des organes génitaux peuvent se développer. De telles caractéristiques cliniques sont souvent observées dans les zones de forte endémie en Afrique.

1.5.5 Complications oculaires associées à l'onchocercose

La production de grandes quantités d'antigènes parasitaires suite à la destruction des microfilaires a des conséquences pathologiques plus graves pour l'œil que pour d'autres organes dotés d'une clairance antigénique plus efficace (7). À mesure que les microfilaires meurent, elles stimulent une réponse inflammatoire limitée dans l'œil. Avec le temps, cela produit une accumulation de lésions inflammatoires locales (kératite ponctuée) et de cicatrices (kératite sclérosante). Étant donné que le fonctionnement normal de l'œil dépend de la clarté optique, des cicatrices même légères peuvent entraîner une déficience visuelle importante.

La cécité onchocercienne peut résulter d'une atteinte de différentes parties de l'œil : une atteinte de la chambre antérieure sous forme de kératite cornéenne (Fig. 1.7) ; une atteinte de l'iris (iritis, et éventuellement glaucome secondaire et cataracte) ; et une atteinte de la chambre antérieure sous forme de chorioretinite ou d'atrophie du nerf optique.

Figure 1.7. Kératite sclérosante due à une infection chronique de la chambre antérieure par des microfilaires d'*O. volvulus*.



Source : Organisation mondiale de la Santé

1.5.6 Manifestations systémiques

Plusieurs caractéristiques qui ne sont pas clairement associées à l'étiologie ou la pathogenèse de l'onchocercose ont été décrites, notamment la présence de microfilaires dans diverses parties du corps, un faible poids corporel, une débilité généralisée, des douleurs musculo-squelettiques, l'épilepsie, le nanisme (syndrome de Nakalanga) et le syndrome du hochement de tête. Les taux de prévalence communautaire et l'intensité de ces manifestations cliniques peuvent dépendre de la répartition, de l'abondance et de l'intensité des piqûres de simules vectrices dans les zones d'endémie. Ces associations font actuellement l'objet d'études approfondies.

1.6 Charge de morbidité de l'onchocercose

Parce que les stades immatures des simulies vectrices sont dans les ruisseaux et les rivières, l'emplacement des gîtes larvaires détermine la répartition et l'intensité de l'onchocercose. On dit que c'est une « maladie du bout de la piste » qui touche les communautés les plus éloignées et les plus difficiles d'accès, où les agriculteurs ruraux et les villageois qui s'habillent légèrement lorsqu'ils travaillent dans les champs sont exposés aux piqûres de mouches infectieuses. L'onchocercose est de nature chronique et énigmatique, et les membres plus âgés des communautés d'endémie présentent significativement plus de manifestations cliniques que les personnes plus jeunes.

L'onchodermatite engendre des problèmes psychosociaux, mais a aussi des effets économiques directs et indirects. Un rapport de 1997 de l'OMS (8) montrait que les personnes présentant des manifestations graves de l'atteinte cutanée dépensaient environ 20 US \$ de plus par an sur leur santé que celles qui n'en souffraient pas. Compte tenu du faible niveau de revenu de ces communautés d'endémie pauvres, ce coût supplémentaire représente 15 % des revenus d'une personne infectée.

L'impact d'une maladie peut être exprimée en termes de perte d'années de vie ajustées sur l'incapacité (DALY), qui est une mesure de la mortalité précoce et des années vécues avec une invalidité due à une maladie. On estime qu'en 2017, l'onchocercose a entraîné 1,3 millions de DALY (9), et une analyse précédente de l'impact a suggéré que plus de 50 % de la charge de morbidité était imputable à l'atteinte cutanée (10, 11).

1.6.1 Impact sur la vie sociale

Bien qu'une piqûre de *Simulium* femelle n'est pas initialement douloureuse, elle peut être suivie d'une lésion ulcéreuse irritée et très boursouflée, en raison de l'irritation produite par les sécrétions salivaires de la simulie vectrice, qui sont un mélange complexe de protéines de faible poids moléculaire biologiquement actives. Les personnes sensibles peuvent endurer un prurit à long terme et des démangeaisons suffisamment intenses pour provoquer une insomnie (2), entraînant une perte de productivité.

Beaucoup des changements associés à l'onchodermatite sont visibles, ce qui peut avoir des effets pénibles sur le mode de vie des personnes affectées, y compris la stigmatisation psychosociale et le rejet social, la crainte d'une discrimination (12), une faible estime de soi (13), une détresse psychologique et des opportunités professionnelles limitées (12, 14). L'impact négatif est particulièrement important pour les femmes en raison de la valeur sociétale accordée à leur peau et leur beauté (15, 16).

1.6.2 Effet sur l'offre de main-d'œuvre

Les effets de l'onchocercose sur l'offre de main-d'œuvre est une préoccupation majeure depuis des dizaines d'années, en particulier dans les pays de forte endémie et où les niveaux d'infection sont très élevés. Les données publiées indiquent que la maladie peut impacter le réservoir de main-d'œuvre de trois façons :

- **En tant que cause de décès.** Prost et Vauglade (17) ont observé que le taux de mortalité chez les personnes âgées de plus de 30 ans rendues aveugles par *O. volvulus* était trois à quatre fois plus élevé que celui des personnes voyantes dans la même tranche d'âge. La conséquence est une diminution moyenne de l'espérance de vie d'environ 13 ans chez 30 à 40 % des adultes vivant dans des communautés d'endémie (18).

- **En tant que cause d'invalidité permanente.** La cécité et les déficits visuels graves dus à l'onchocercose réduisent le nombre d'années de travail pour les activités courantes faisant appel à la vision (19) (Fig. 1.8).

Figure 1.8. La cécité et/ou les déficits visuels graves dus à l'onchocercose réduisent la disponibilité des personnes atteintes pour les activités faisant appel à la vision.



Source: référence 20

- **En tant que cause de déficience visuelle.** Une perte partielle de la vision et/ou d'autres manifestations non invalidantes peuvent également réduire l'efficacité au travail. Rolland et Ballay (21) au Burkina Faso et à Nwoke (2) au Nigeria ont observé que la cécité est fortement concentrée dans les tranches en âge de travailler et atteint des niveaux très élevés dans les zones d'hyperendémie. L'OMS (22) a signalé qu'en moyenne, le nombre total de jours de travail potentiellement perdus chaque année était de 170 par personne. Cela impliquait une perte de près de 9 millions de jours par an dans les 11 zones d'Afrique de l'Ouest couvertes par le Programme de lutte contre l'onchocercose (OCP) à cette époque. Même si l'exactitude de ce chiffre est discutable en raison du chômage souvent élevé dans les zones rurales, l'effet de la cécité sur la productivité dans les zones d'endémie onchocercarienne est significatif.

1.6.3 Effet sur l'offre de terrains

L'onchocercose a également des effets néfastes sur l'offre effective de terrains en Afrique. Waddy (23) et Hunter (24) ont signalé que les faibles densités de population dues à la désertion de nombreuses vallées fluviales fertiles dans les savanes d'Afrique de l'Ouest avaient été causées principalement par la cécité des rivières (Fig. 1.9).

Figure 1.9. Village abandonné dans une vallée fluviale fertile en zone de savane d'Afrique de l'Ouest.



Les données probantes combinées suggèrent que le dépeuplement de nombreuses zones riveraines s'est produit dans les zones d'hyperendémie onchocerquienne. Cet impact était réversible, comme en témoigne une évaluation à long terme des activités de l'OCP qui a révélé que, dans les zones où la transmission avait été pratiquement interrompue par la lutte antivectorielle, la progression des lésions oculaires s'était arrêtée et l'incidence des nouvelles infections parmi environ 30 millions d'enfants nés pendant le programme était presque nulle; 25 millions d'hectares de terrains ont en outre été récupérés à des fins d'exploitation agricole, à savoir une région suffisante pour nourrir 18 millions de personnes (25). Toutes les zones auparavant abandonnées ont été spontanément réintégréées, accusant également un développement économique accru.

1.7 De la lutte contre l'onchocercose à son élimination

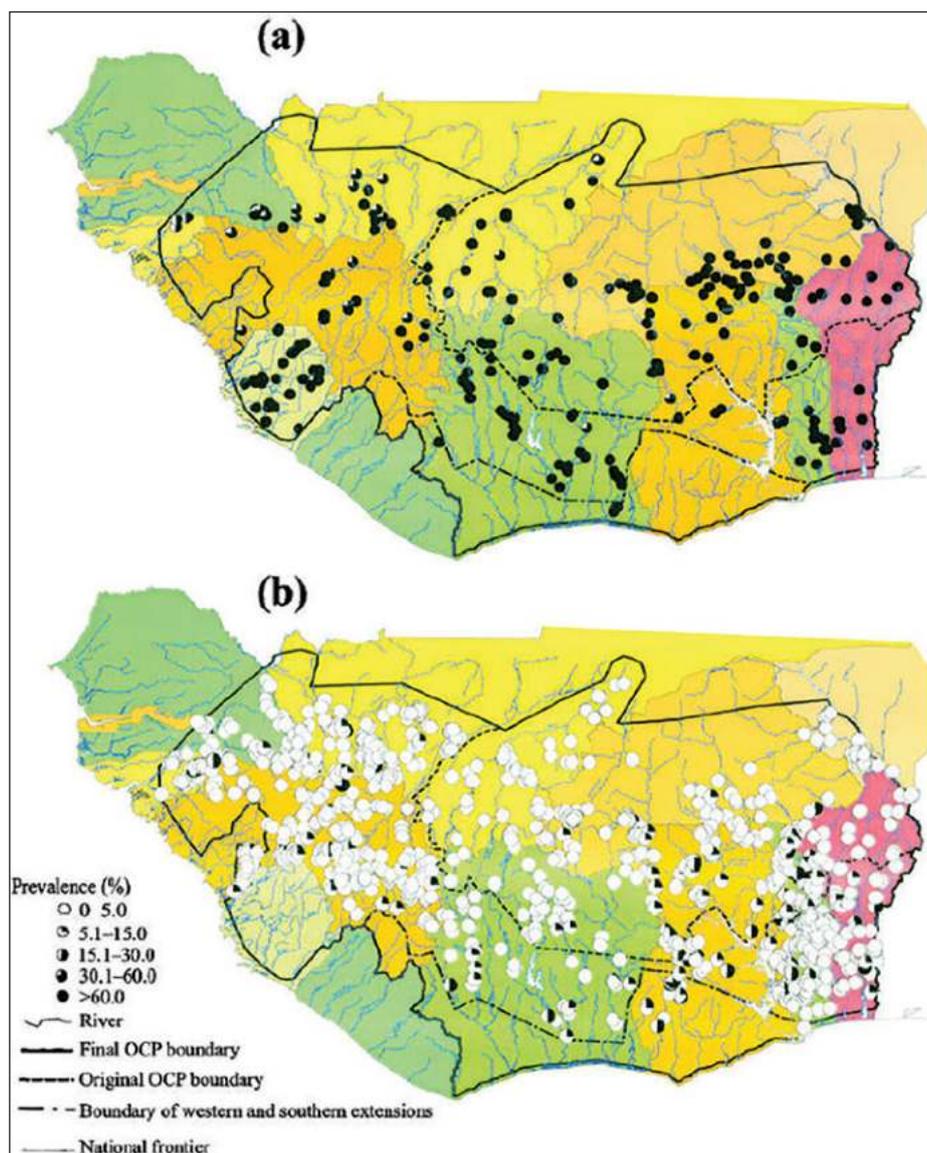
Comme bien d'autres maladies tropicales négligées (MTN), l'onchocercose est associée à la pauvreté et se concentre presque exclusivement parmi les populations appauvries qui vivent souvent dans des zones reculées et marginalisées. Cette maladie figure parmi les 10 MTN ciblées pour l'élimination de la transmission dans la Feuille de route 2030 pour les MTN de l'OMS (26). Parvenir à l'élimination exigera que chaque personne éligible puisse accéder à l'AMM dans les zones de transmission. Les estimations indiquent que cela nécessitera des taux de couverture thérapeutique annuels soutenus pour au moins 80 % des communautés pendant 15 à 20 ans en Afrique (27), et certains modèles épidémiologiques prédisent qu'il faudra même plus longtemps, en fonction de certaines conditions telles que l'intensité initiale de l'infection et le schéma thérapeutique (28). Cependant, l'élimination de la transmission d'*O. volvulus* dans des foyers définis a été signalée en Éthiopie, au Nigeria, au Soudan et en Ouganda. L'élimination de la transmission, et finalement du parasite, a été confirmée au titre de critères standardisés dans 11 des 13 foyers dans les Amériques, où la stratégie principale était une AMM semestrielle.

1.8 Bien-fondé d'un manuel d'entomologie pour les programmes d'élimination de l'onchocercose

1.8.1 Lutte antivectorielle

Nous connaissons depuis près de 100 ans le rôle des espèces de *Simulium* en tant que vecteurs d'*O. volvulus*. La lutte initiale contre les simulies a consisté à réduire le nombre de ces insectes nuisibles. À mesure que l'on a découvert que les simulies étaient non seulement la cause d'une nuisance considérable mais aussi des vecteurs d'*O. volvulus*, une plus grande attention a été accordée au parasite propagé par ces insectes. Le fait que l'onchocercose provoque de graves maladies cutanées et la cécité et qu'elle a un impact extrêmement négatif sur le développement socioéconomique des communautés et des zones d'endémie a conduit à la création d'un programme à l'échelle supranationale. Ensemble, l'OMS, la Banque mondiale et le Programme des Nations Unies pour le développement, avec l'OMS en tant qu'organisation chargée de l'exécution, ont planifié la réunion régionale de l'OCP en Afrique de l'Ouest en 1974 et ont commencé des opérations de lutte contre la cécité des rivières 1 an plus tard dans 11 pays (Fig. 1.10).

Figure 1.10 Prévalence de l'infection et intensité de la maladie dans les zones couvertes par le Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest en 1974 (a) et 10 ans plus tard (b).



Depuis sa création et jusqu'en 1987, l'OCP s'est appuyé exclusivement sur la lutte antivectorielle pour atteindre ses objectifs. Pendant une décennie (1974–1984), l'OCP a mené des campagnes larvicides prolongées et régulières des rivières avec des insecticides rapidement biodégradables. L'impact du programme a été mesuré sur les plans épidémiologique et entomologique (29). L'évaluation épidémiologique était fondée sur la détection des microfilaries par microscopie de biopsie cutanée exsangue pour déterminer la prévalence et l'intensité de l'infection dans la communauté et sur des évaluations ophtalmologiques pour détecter les microfilaries dans l'œil. Dans le cadre des évaluations entomologiques, des sujets humains ont été utilisés comme appâts pour piéger des mouches, qui ont ensuite été disséquées afin de déterminer la présence de larves infectantes d'*O. volvulus*. Des indices de transmission, notamment le potentiel annuel de transmission (PAT), ont été calculés et utilisés comme mesures standard (se reporter au Chapitre 11). L'OCP a préparé des manuels de formation entomologiques et épidémiologiques pour faciliter la réalisation des évaluations requises par le personnel du programme.

1.8.2 L'avènement du Mectizan®

Une fois le Mectizan® (ivermectine) reconnu comme médicament de prédilection dans le traitement de l'onchocercose, et après la décision sans précédent de Merck & Co. Inc. d'en faire don aussi longtemps que cela serait nécessaire, une nouvelle ère a débuté dans la lutte contre cette maladie. L'accès au Mectizan® a fourni un outil de santé publique aux organisations comme l'OCP et l'OEPA pour contrôler la maladie et potentiellement éliminer *O. volvulus*, malgré la présence d'énormes défis logistiques pour assurer l'accès à l'ivermectine aux personnes qui en avaient besoin. La disponibilité du médicament a néanmoins permis aux programmes régionaux d'utiliser la chimiothérapie de masse comme principale modalité au lieu de larvicides ou en complément à ces derniers.

L'OCP a commencé à administrer l'ivermectine chez les populations prioritaires en 1987. Cependant, le tableau épidémiologique de la maladie dans de nombreux autres pays d'endémie africains était inconnu, et il est alors devenu urgent d'identifier rapidement les zones d'endémie de sorte que l'ivermectine puisse être distribuée aux populations les plus touchées. Cela a conduit au développement d'une cartographie épidémiologique rapide de l'onchocercose. Plutôt qu'examiner des biopsies cutanées exsangues positives, c'est-à-dire contenant des microfilaries, la nouvelle approche impliquait la recherche, par examen clinique, de nodules onchocerquiens dans un échantillon aléatoire de 30 à 50 adultes (âgés de 20 ans et plus) originaires d'un village sélectionné, dans le but de déterminer le schéma épidémiologique de la maladie dans un foyer de transmission. Le protocole a été mis à l'épreuve sur le terrain dans le cadre d'une enquête épidémiologique à l'échelle nationale au Cameroun réalisée par Ngoumou et Walsh (30). Après le succès de cette activité, des manuels de terrain et des lignes directrices ont été élaborés et la cartographie épidémiologique rapide de l'onchocercose est devenue le principal outil permettant d'identifier les zones de transmission.

Environ 3 ans après l'utilisation initiale de l'ivermectine par l'OCP, d'autres pays ont adopté l'AMM en collaboration avec des agences des Nations Unies et des organisations non gouvernementales de développement, qui ont créé une structure de coordination en 1992 pour promouvoir les efforts de lutte. L'OCP a poursuivi ses activités jusqu'en 2002 et compte à son actif de nombreuses réalisations : l'incidence des atteintes cutanées a été considérablement réduite dans toute la Région (40 millions de personnes épargnées) ; 600 000 cas de cécité ont été évités ; la présence et la répartition d'*O. volvulus* dans la région a considérablement diminué ; 18 millions de nourrissons nés après le début du programme ne couraient aucun risque de développer l'onchocercose ; et plus de 25 millions d'hectares de terres fertiles et riveraines ont été rouverts.

1.8.3 Programme pour l'élimination de l'onchocercose dans les Amériques

En 1992 l'OEPA, un programme régional visant à éliminer *O. volvulus* dans tous les pays touchés des Amériques a été mis en place. À cette époque, on comptait 13 foyers actifs dans six pays, du Mexique dans le nord jusqu'au Brésil dans le sud (Fig. 1.3). La stratégie était fondée sur des études antérieures effectuées au Libéria et sur une étude pilote de 3 ans réalisée au Guatemala, qui montraient que des résultats plus rapides étaient obtenus avec une

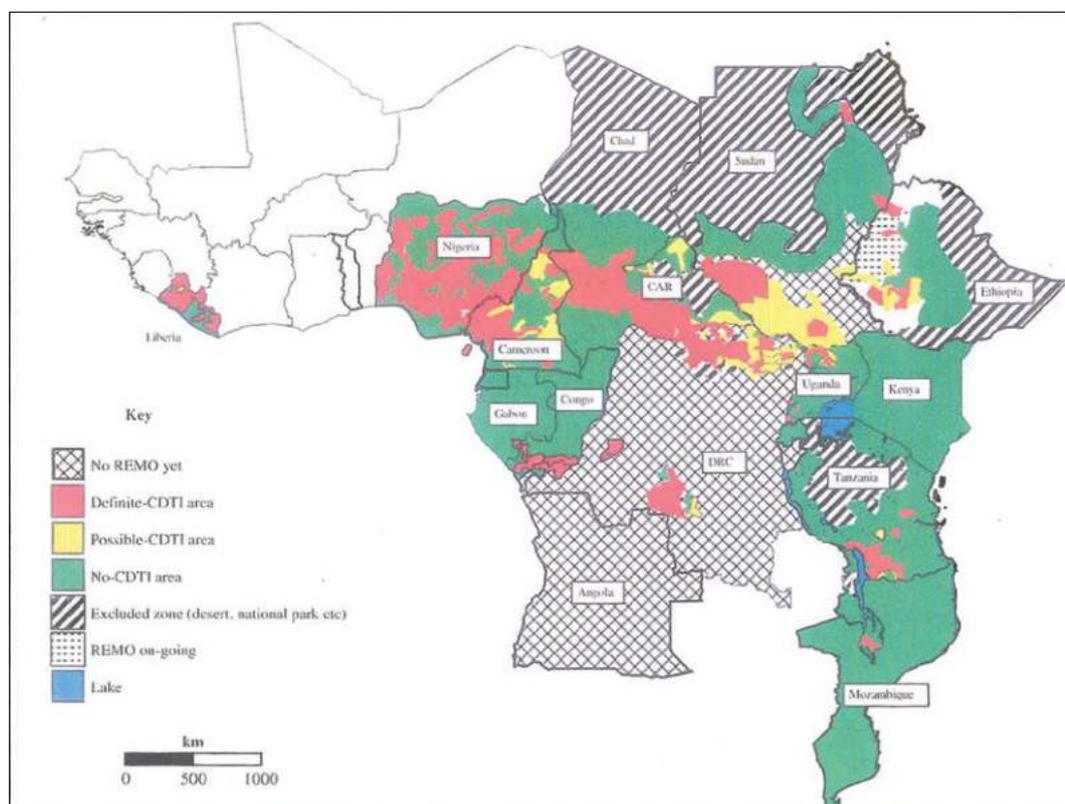
campagne d'AMM semestrielle, à l'échelle communautaire, d'au moins 85 % de la population éligible, qu'avec un traitement annuel. Au début du programme, plus de 536 000 personnes étaient à risque de contracter l'infection. Un taux de couverture de plus de 85 % de la population éligible était atteint en 2006, et depuis 2009 aucun nouveau cas de cécité onchocercienne n'a été signalé dans la Région. La zone de transmission d'origine a été réduite de 94 %, le reste se situe dans une jungle transfrontalière entre le Brésil et la République bolivarienne du Venezuela.

1.8.4 Programme africain de lutte contre l'onchocercose

La mise en œuvre du Programme africain de lutte contre l'onchocercose (APOC) en 1995 entamait un nouveau chapitre dans la lutte contre la maladie sur ce continent (Fig. 1.11). L'objectif initial du Programme était de combattre la maladie en établissant une campagne de traitement à l'ivermectine efficace, autonome et sous directives communautaires, fondée sur des partenariats de collaboration dans le cadre des soins de santé primaires dans les zones d'endémie persistantes en Afrique. L'élimination des vecteurs en utilisant des méthodes respectueuses de l'environnement dans des foyers sélectionnés a également été envisagée, mais ne constituait pas un outil de lutte majeur comme dans l'OCP (20).

Grâce aux améliorations en matière de technologie, les stratégies d'évaluation épidémiologique et entomologique ont changé. Au début, l'APOC utilisait une combinaison de données obtenues de la dissection et de l'analyse poolée de lots de simuliés (pour déterminer le taux d'infectivité des parasites) (Chapitres 9 et 10). Les mouches étaient capturées sur appât humain afin de déterminer les taux mensuels de piqûres (TMP) et de calculer les statistiques de transmission annuelles à intégrer aux évaluations basées sur la cartographie épidémiologique rapide de l'onchocercose et les biopsies cutanées.

Figure 1.11. Pays participant au Programme africain de lutte contre l'onchocercose.



Source: Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest

REMO: cartographie épidémiologique rapide de l'onchocercose; TIDC: traitement à l'ivermectine sous directives communautaires

RCA: République Centrafricaine; RDC: République Démocratique du Congo. Noter que le Soudan est maintenant divisé en Soudan et Soudan du Sud, et que la Tanzanie est la République-Unie de Tanzanie, avec Zanzibar.

1.8.5 L'ère de l'élimination de l'onchocercose

Les premières lignes directrices relatives à l'interruption de la transmission d'*O. volvulus* dans les Amériques ont été préparées par l'OMS et opérationnalisées pour la première fois dans un foyer au Guatemala (31). Par la suite, l'APOC a soutenu des travaux au Mali et au Sénégal pour démontrer la faisabilité de l'élimination de l'onchocercose en Afrique (32), et ces projets ont conduit l'OMS à envisager de passer de la lutte à l'élimination. En 2009, une réunion informelle d'experts sur l'élimination de la transmission de cette maladie en Afrique à l'aide des outils actuels a été organisée par l'APOC à Ouagadougou, au Burkina Faso, ce qui a permis d'établir une définition ainsi qu'un cadre conceptuel pour l'élimination de l'onchocercose, précisé ultérieurement par le Comité consultatif technique de l'APOC (33).

La mise en œuvre du nouvel objectif d'élimination a nécessité un changement de stratégie majeur. Les données collectées en Afrique et dans les Amériques ont été utilisées pour élaborer les Lignes directrices de l'OMS pour l'arrêt de l'administration de masse de médicaments et la vérification de l'élimination de l'onchocercose humaine (27). Les nouveaux critères exigeaient la détection d'anticorps IgG4 dirigés contre l'antigène recombinant Ov-16 par méthode immuno-enzymatique ELISA chez l'enfant, plutôt que la détection des microfilaries par microscopie de biopsie cutanée exsangue. L'évaluation entomologique a été orientée vers l'évaluation de la prévalence de larves au stade infectant dans les têtes de simules au moyen de la technique de PCR d'O-150. La dissection des simules n'était plus nécessaire mais pouvait néanmoins être utilisée pour déterminer les taux de parité. Actuellement, les zones à faible prévalence d'onchocercose étant maintenant susceptibles de nécessiter une AMM, la cartographie épidémiologique rapide de l'onchocercose n'est plus utilisée et a été remplacée par le test sérologique des anticorps IgG4 anti-Ov-16. Dans certaines localités, des simules en quête d'hôtes sont désormais collectées dans des pièges à fenêtre Esperanza (pièges EWT) plutôt que par capture sur appât humain. La lutte antivectorielle est actuellement recommandée comme complément à une stratégie d'AMM dans les zones qui ne progressent pas vers l'élimination. À mesure que les méthodes utilisées pour l'évaluation, les outils et les objectifs des programmes ont changé, il a été nécessaire d'élaborer un nouveau manuel entomologique afin que chaque pays touché soit préparé à évaluer ses propres progrès.

Chapitre 2.

Caractéristiques générales et cycle vital des simulies

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 2

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- classer les différentes espèces de simulies (*Simulium* spp);
- apprécier les caractéristiques biologiques de *Simulium* spp; et
- décrire et expliquer le cycle biologique de *Simulium* spp.

2.1 Classification du genre *Simulium*

Phylum : Arthropoda (insectes et leurs alliés)

Classe : Insecta

Ordre : Diptera

L'ordre des Diptères se compose de « vraies mouches » avec deux ailes. Les insectes de cet ordre se caractérisent par :

- des yeux composés bien visibles, la plupart des espèces ayant également trois yeux simples, appelés « ocelles », disposés en triangle au sommet de la tête ;
- une seule paire d'ailes membraneuses fonctionnelles ; et
- des ailes postérieures modifiées ou « haltères » (la deuxième paire d'ailes chez les Diptères, qui sont réduites et servent d'organes balanciers).

Famille des Simuliidae (simulies)

- La plupart des insectes de cette famille sont de couleur noire, d'où leur nom commun de « mouche noire » ; certaines espèces peuvent cependant être brunes, dorées ou même jaunes.
- Les stades immatures (préimaginaux) sont aquatiques et les mouches femelles adultes de nombreuses espèces se nourrissent de sang de manière agressive.

Genre *Simulium* et espèces

Les simulies (*Simulium*) sont le genre type de la famille des Simuliidae et comptent plus de 1800 espèces. L'espèce type, *S. colombaschense*, était un ravageur notoire dans la région centrale du bassin du Danube (34), avec l'émergence annuelle d'énormes populations attaquant les humains et le bétail. Plusieurs espèces du genre sont d'importants vecteurs d'un certain nombre d'agents pathogènes, dont le parasite *O. volvulus*. Des espèces vectrices pouvant transmettre *O. volvulus* sont retrouvées dans 28 pays d'Afrique subsaharienne, au Yémen et dans six pays d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (Brésil, Colombie, Équateur, Guatemala, Mexique et République bolivarienne du Venezuela). Différentes espèces vectrices de *Simulium* sont présentes dans différentes régions. Par exemple :

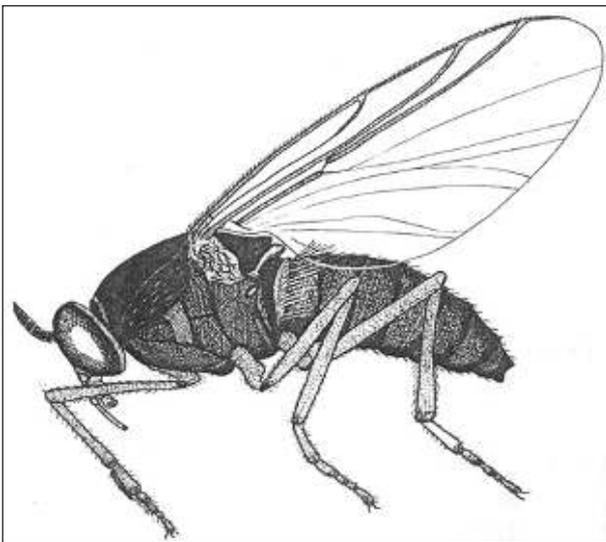
- *S. sirbanum* et *S. damnosum* dans la savane africaine
- *S. neavei*, principalement dans les régions forestières d'Afrique de l'Est
- *S. yahense* et *S. squamosum* dans les forêts tropicales d'Afrique
- *S. leonense* dans les plaines de la Sierra Leone
- *S. sanctipauli* dans les grands fleuves côtiers d'Afrique de l'Ouest
- *S. ochraceum* dans les terres hautes d'Amérique centrale et du Mexique
- *S. metallicum* et *S. exiguum* dans les zones vallonnées et peu boisées d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud
- *S. guianense* dans la forêt tropicale du Brésil et la République bolivarienne du Venezuela

De nombreuses espèces de simulies sont d'apparence très similaire, et leur identification correcte peut exiger une analyse chromosomique ou moléculaire détaillée. Pour cette raison, elles sont regroupées dans des complexes d'espèces (p. ex., le complexe *S. damnosum*), voir Post et coll. (35). Les espèces apparentées qui sont d'apparence semblable mais peuvent néanmoins être distinguées à l'aide d'outils taxonomiques traditionnels sont classées dans une catégorie de groupe (p. ex., le groupe *S. neavei*). Le Chapitre 4 donne des descriptions plus détaillées des caractéristiques morphologiques utilisées pour l'identification.

2.2 Caractéristiques générales des simulies adultes

Les mouches noires femelles adultes (Fig. 2.1) sont en général petites (2 à 4 mm de long), robustes et de couleur sombre, avec un corps solide et un thorax bossu caractéristique. La tête comporte des yeux composés bien visibles, qui présentent un dimorphisme sexuel. La simulie mâle est typiquement dotée de grands yeux qui se touchent au-dessus des antennes (holoptiques) (Fig. 2.2A), tandis que les yeux de la femelle sont bien séparés au-dessus des antennes (dichoptiques) (Fig. 2.2B).

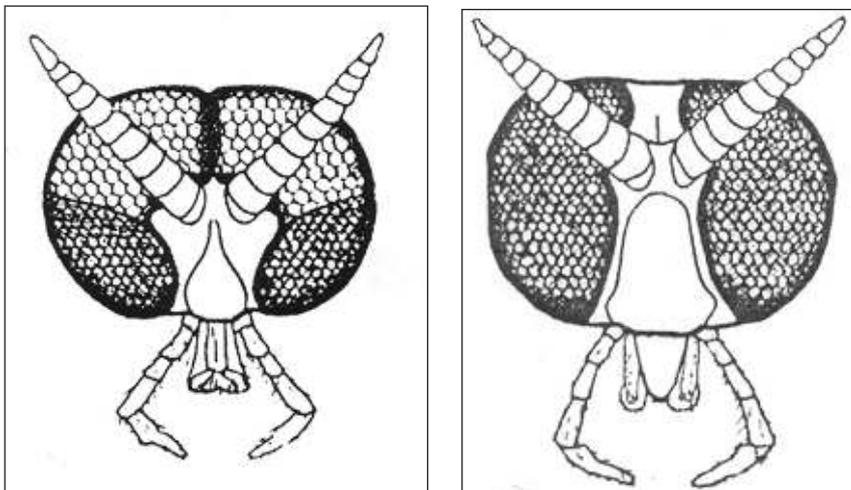
Figure 2.1 Vue latérale d'une simulie femelle adulte présentant les caractères typiques.



Source : référence 36

Noter la forme typique du thorax et les nervures antérieures épaissies des ailes.

Figure 2.2. Vue de face de la tête d'une simulie montrant les yeux holoptiques du mâle (A) et les yeux dichoptiques de la femelle (B).



A

B

Source : référence 36

Les antennes sont plus courtes que le thorax et sont distinctement composées de 9 à 11 segments. Les ailes sont courtes, larges, transparentes et dépourvues d'écailles, d'ornements ou de forte pilosité. La nervure de l'aile est caractéristique: seules les nervures proches des bords antérieurs sont bien développées et robustes, tandis que les autres sont membraneuses ou faibles (Fig. 2.1). L'abdomen est court et présente une pilosité fine, discrète et serrée. Les organes génitaux des deux sexes sont bien visibles. En termes pratiques, les organes génitaux mâles distinctifs des Simuliidae sont caractéristiques de chaque espèce et peuvent souvent être utilisés à des fins taxonomiques.

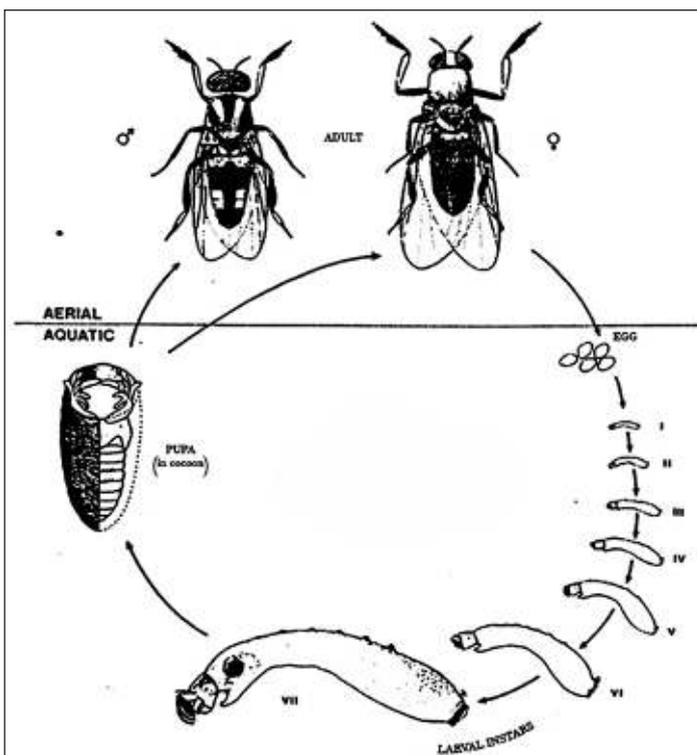
Les simulies adultes sont actives de jour et les femelles de certaines espèces peuvent parcourir de longues distances à la recherche de repas de sang. D'autres utilisent les vents saisonniers des grands fronts météorologiques pour migrer sur des zones relativement vastes.

2.3 Cycle vital des simulies

Les *Simulium* spp femelles sont les seules à se nourrir de sang, au moyen d'une structure constituée de plusieurs pièces buccales travaillant à l'unisson. La peau est percée quand le labre se fixe à la peau de l'hôte, puis les mandibules lacèrent la peau et la lacinia maxillaire et l'hypopharynx sont insérés pour agrandir la plaie. La salive est injectée par l'hypopharynx dans la lésion, ce qui empêche le sang de coaguler et lui permet de pénétrer dans la plaie et de former une mare de sang. D'autres composants de la salive agissent en tant qu'agents immunosuppresseur et vasodilatateur locaux. Les simulies femelles présentent une concordance gonotrophique, c'est-à-dire qu'un seul repas sanguin les nourrit suffisamment pour produire un lot d'œufs. Les simulies aspirent également d'autres liquides dans leur tube digestif, principalement au moyen d'un puissant mécanisme de pompe cibarienne, qui est une structure musculaire située dans leur tête. Les deux sexes prennent des repas à base de nectar de plantes pour obtenir de l'énergie.

Les simulies subissent une métamorphose complète avec quatre stades de développement distincts (Fig. 2.3): le stade de l'œuf, les stades larvaires, un stade nymphal et le stade adulte ailé (imago).

Figure 2.3. Cycle vital de *Simulium damnosum*.



Source : adapté des références 1 et 37

2.3.1 Stade de l'œuf

Le schéma de ponte diffère selon les espèces. Par exemple, certaines femelles se posent sur des supports en saillie comme des rochers, des pierres et des végétaux pour pondre leurs œufs. *Simulium ochraceum*, un vecteur important dans les Amériques, disperse ses œufs à la surface d'un courant d'eau pendant son vol. Chez d'autres espèces, les femelles rampent sous l'eau et sont complètement submergées pendant la ponte. Le site de ponte de *S. neavei*, un vecteur présent en Afrique de l'Est, n'a pas encore été déterminé.

Les cours d'eau préférés pour la ponte par les simulies femelles varient selon les espèces. Quelques *Simulium* spp préfèrent les filets d'eau, les ruisseaux à faible débit ou les embouchures de lacs, tandis que d'autres, comme les membres du complexe *S. damnosum*, qui est un vecteur important dans la plupart des pays africains, préfèrent les ruisseaux, rivières et rapides à courant vif bien aérées et à forte teneur en nutriments.

De forme triangulaire, les œufs de *Simulium* mesurent 0,1 à 0,4 mm de long et sont en général pondus en grands nombres (150 et plus). Ils sont pâles ou blanchâtres lorsqu'ils sont déposés et s'assombrissent à mesure qu'ils mûrissent. Les œufs de simulies n'ont pas de couche de cire interne et doivent donc rester humides pour l'embryogenèse. Pour éviter le dessèchement, les lots d'œufs sont déposés en amas ou en rangs gluants, directement à la surface de l'eau ou juste en-dessous de la surface sur des supports immergés.

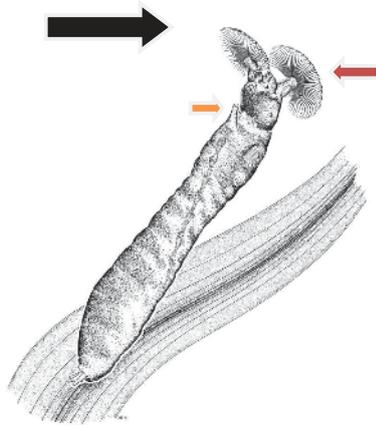
La durée de développement entre la ponte des œufs et l'éclosion des larves varie en fonction de la température de l'eau. Il faut en moyenne 30 à 36 heures à 26 °C et 4 jours à 21 °C. Les œufs de *S. sirbanum*, cependant, peut se développer complètement en 1 jour dans de l'eau extrêmement chaude (32 °C) (38).

2.3.2 Stades larvaires

Les larves éclosent après quelques jours à quelques semaines, selon la température de l'eau et la région. Les larves fraîchement écloses maintiennent leur emprise sur l'enveloppe de l'œuf au moyen d'un fil de soie sécrété par les glandes salivaires jusqu'à ce qu'elles puissent se fixer à un support immergé plus grand à l'aide d'une couronne de très petits crochets sur le dernier segment du corps. Il peut y avoir six à huit stades larvaires (instars), chacun étant séparé par une mue; *S. damnosum* présente habituellement sept stades (Fig. 2.3).

Les larves de *Simulium* ont des caractères qui les distinguent d'autres insectes aquatiques (Fig. 2.4). La tête est en général noire et comporte une paire de couronnes de soies proéminentes (rôle natatoire et filtreur de particules alimentaires), communément appelées « éventails céphaliques » (Fig. 2.4, flèche rouge). À la face ventrale du prothorax, juste en dessous de la tête, se trouve un petit pseudopode ou fausse-patte (Fig. 2.4, flèche orange), armé d'une petite couronne de crochets. La larve de *Simulium* a un corps cylindrique faible, segmenté, qui est généralement blanchâtre, bien qu'il puisse être foncé ou parfois verdâtre chez certaines espèces.

Figure 2.4. Le dernier stade larvaire de *Simulium vittatum*, présentant deux caractères morphologiques : l'éventail céphalique (flèche rouge) et la fausse-patte (flèche orange). La flèche noire (en haut) indique le sens du mouvement de la colonne d'eau.



Source : dessin du Dr David Maddison, Oregon State University, Oregon, États-Unis

Le développement larvaire de *S. damnosum* comporte généralement sept stades séparés par des mues. Ainsi, les stades 1 et 2 sont de très petites larves (< 1,25 mm) qui possèdent une antenne à un article (ou segment) au stade 1 et deux articles au stade 2. La larve de stade 3 possède une antenne à trois articles et tout le corps est dépourvu d'écaillés. Le stade 4 possède des écaillés seulement sur le tiers postérieur de l'abdomen, tandis que le stade 5 présente des écaillés sur tout l'abdomen mais les histoblastes des ailes et de la patte mesothoracique ne sont pas fusionnés.

Les stades 6 et 7 présentent des écaillés sur tout le corps, les histoblastes des ailes et de la patte mesothoracique sont visibles. Les histoblastes des organes respiratoires sont clairs au stade 6 et deviennent sombres au stade 7 avant la nymphose.

Les larves matures du dernier stade de *S. damnosum* se distinguent par la présence d'une tache sombre au niveau des branchies, appelée histoblaste respiratoire, à travers laquelle les branchies nymphales en développement sont visibles sur la face latérale du thorax. Pour les études cytotaxonomiques, il est préférable de sélectionner les stades larvaires présentant un filament respiratoire ou histoblaste larvaire foncé pour les travaux sur les chromosomes (se reporter au Chapitre 7).

La durée du développement larvaire varie selon les espèces et est inversement proportionnelle à la température de l'eau, ainsi qu'à la quantité et la qualité des nutriments véhiculés par le courant (Fig. 2.4). Les larves de *S. damnosum* achèvent le développement de ce stade en 8 à 10 jours en moyenne. Habituellement, les larves de simulies se nourrissent par filtrage en déployant leurs éventails céphaliques recouverts de mucus pour filtrer les particules alimentaires (essentiellement diatomées, algues, champignons microscopiques, bactéries). Certaines espèces, cependant, utilisent leurs pièces buccales pour gratter et prélever les algues et autres particules des supports, tandis que d'autres collectent les particules provenant de végétaux en décomposition (39). De nombreuses larves de simulies sont mobiles, mais leurs déplacements sur un support sont habituellement réduits. Chaque larve s'accroche au support grâce à sa couronne postérieure de crochets ancrée dans une goutte de soie visqueuse. Les larves peuvent aussi se déplacer en se laissant dériver dans le courant d'eau vers de nouveaux emplacements.

2.3.3 Stade nymphal

Au terme du dernier stade larvaire, la larve transforme la soie sécrétée par les glandes salivaires en tissant un cocon protecteur brunâtre en forme de babouche, dans lequel elle mue pour évoluer en nymphe. Ce stade reste ancré au même support que la larve. Les nymphes matures ont l'aspect général d'une simulie adulte enveloppée

dans une membrane. De couleur jaunâtre quand elles sont jeunes, elles deviennent de plus en plus foncées en vieillissant. Chez les nymphes âgées, les yeux présentent le même dimorphisme sexuel que chez les adultes. Elles ne s'alimentent pas et sont complètement enfoncées à l'intérieur d'un cocon fixé au support, à l'exception des filaments respiratoires.

Le thorax porte dorsalement, à l'avant, une paire de branchies cuticulaires filamenteuses (Fig. 2.5A, flèche). Le nombre, la forme et le port de ces filaments respiratoires sont très caractéristiques selon l'espèce, permettant parfois leur identification sur le terrain.

La durée du stade nymphal varie en fonction de la température ambiante mais dure en moyenne 3 à 4 jours. Cette durée est légèrement plus longue chez la femelle que chez le mâle. En quittant l'étui nymphal, l'imago flotte à la surface de l'eau enfermé dans une bulle d'air et prend son envol en quelques minutes.

Certaines simulies africaines, caractérisées par les membres du groupe *S. neavei*, ont une existence aquatique inhabituelle. Les larves (à l'exception du premier stade) et les nymphes ne sont pas retrouvés sur les végétaux et les rochers submergés, mais sont ancrés au corps d'arthropodes aquatiques tels que les stades immatures des éphémères et de divers crustacés, en particulier les crabes d'eau douce. Il s'agit d'une relation dite « phorétique ».

Figure 2.5. A. Schéma en coupe d'une nymphe de similie montrant le cocon externe et l'adulte en développement à l'intérieur. Noter les longs filaments respiratoires (branchies). B. Nymphes de *Simulium* ancrées sur une plante aquatique.



Source : A. Dr Wolfgang Lechthaler, Eutaxa.com ; B. Carlos Pradera, *Desinsectador* 08-2017. <<https://desinsectador.com/2017/08/06/simulium-erythrocephalum-sobre-potamogeton-nodosus/>>.

2.3.4 Stade imaginal

Les simulies adultes (imagos) s'accouplent en essaims, généralement sur les sites d'émergence aquatiques (40). Les mouches mâles survolent le site, utilisant un marqueur comme guide d'orientation pour maintenir l'intégrité de l'essaim, et sont attirés visuellement par le mouvement des mouches femelles à mesure qu'elles montent dans l'essaim. Comme le montre la Figure 2.2A, les simulies mâles ont des yeux composés sur leur région dorsale, qui leur permettent de détecter les mouvements sur un large champ latéral et vertical. Une fois le contact établi et l'accouplement entre les deux sexes terminé, la femelle retient les spermatozoïdes au moyen d'un spermatophore, une enveloppe résistante contenant les spermatozoïdes qui se situe sur le dernier segment abdominal. L'insémination a lieu lorsque les spermatozoïdes pénètrent dans l'appareil reproducteur. La similie femelle ne s'accouple qu'une fois au cours de sa vie.

Les adultes des deux sexes se nourrissent habituellement de nectars et de jus d'origine végétale, qui sont sources de glucides, peu de temps après l'émergence et l'accouplement. Ils sont stockés dans le jabot et constituent

essentiellement une source d'énergie lorsque les mouches femelles commencent à chercher un repas de sang. Les femelles nullipares peuvent se déplacer sur de longues distances depuis leur lieu de reproduction, tandis que les femelles pares sont moins susceptibles de le faire, préférant rechercher un hôte sanguin plus proche du gîte larvaire aquatique.

La femelle utilise une série d'indices pour d'abord trouver puis s'orienter vers un hôte. L'orientation à longue distance commence dès qu'elle détecte la couleur et le mouvement de l'hôte: les couleurs plus foncées (noir, bleu) sont attirantes. Lorsqu'un hôte potentiel est repéré, l'orientation à mi-distance est stimulée par le dioxyde de carbone produit par la respiration de l'hôte, qui rapproche l'insecte. Le dernier ensemble de stimuli dans la recherche d'un hôte se compose de divers produits chimiques présents dans la sueur et sur la peau de l'hôte.

Chapitre 3.

Gîtes larvaires des simulies vectrices

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 3

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- identifier les gîtes larvaires des simulies ;
- reconnaître différents types de gîtes aquatiques dans lesquels se trouvent des larves de simulies ;
- trouver et identifier les supports utilisés pour la fixation des larves de simulies ;
- décrire les types de végétaux associés aux gîtes larvaires des simulies ;
- reconnaître les différents types de milieux aquatiques artificiels utilisés par les larves de simulies ;
- comprendre l'importance des déterminants hydrologiques et biologiques de la productivité larvaire des simulies ; et
- identifier les crabes sur lesquels des larves phorétiques du groupe *S. neavei* peuvent se trouver.

3.1 Introduction

L'identification des milieux aquatiques où se trouvent les larves de *Simulium* spp constitue une première étape importante dans la lutte antivectorielle et la surveillance, qui déterminera le succès d'un programme de lutte contre l'onchocercose. Ces biotopes aquatiques sont communément appelés « gîtes larvaires » ou « lieux de reproduction ».

Dans l'écologie des rivières à courant rapide, les simulies jouent un rôle important dans la communauté des invertébrés. Les larves filtrent l'eau au moyen de leurs pièces buccales en forme d'éventail (chapitre 2) pour en extraire les composés inorganiques et organiques dissous et particulaires qui servent les nourrissent. Le contenu du filtrat dépend de la géologie, de la topographie, du climat, de l'heure de la journée, de la profondeur de la masse d'eau et du biote. Les attributs physico-chimiques affectent également la vie des organismes aquatiques et influencent la répartition des larves de *Simulium*.

Les conditions indispensables à l'établissement des larves dans un milieu aquatique sont :

- la présence de supports pour la ponte et la fixation ultérieure des larves et des nymphes;
- l'existence d'une vitesse de courant d'eau satisfaisante, par exemple 0,4 à 2,4 m/s pour les membres du complexe *S. damnosum* spp et un flux minimal pour les membres du groupe d'espèces *S. neavei*, qui sont phorétiques sur les crabes d'eau douce; et
- la présence de particules alimentaires en nombre suffisant dans le plancton.

Ces trois conditions doivent être remplies simultanément.

3.2 Chaque gîte larvaire a une population de mouches distincte

Les vecteurs africains d'*O. volvulus* appartiennent à deux groupes de *Simulium* : les simulies qui se reproduisent dans les rivières à courant rapide (complexe d'espèces *S. damnosum* et *S. albivirgulatum*) et celles qui vivent en association phorétique avec des invertébrés, par exemple des crabes. Ces dernières vivent dans ou à proximité de petites rivières turbulentes en Afrique de l'Est, mais peuvent survivre pendant la saison sèche dans les collections d'eau stagnante.

Quelques lieux de reproduction typiques d'espèces vectrices en Afrique et dans les Amériques sont décrits et illustrés ci-dessous, avec les espèces de simulies qui y sont couramment rencontrées.

Les larves de ***S. damnosum s.s. (sensu lato)*** préfèrent en général les eaux turbulentes à courant vif dans les rapides des rivières, mais les ruisseaux de taille moyenne peuvent également être colonisés, en particulier dans les terres hautes. Pendant la saison sèche, on trouve les larves de *S. damnosum s.l.* dans les rivières au débit plus lent. D'une manière générale, ces larves préfèrent l'eau bien aérée (75 à 100 % d'oxygène).

Ce complexe d'espèces se reproduit dans les savanes, les forêts de plaine et les zones d'altitude. Dans la plupart des lieux de reproduction en savane, la présence de ce complexe d'espèces est saisonnière, en fonction de la géologie du lit du cours d'eau et de l'évolution des conditions hydrologiques (hauteur d'eau et débit) (Fig. 3.1).

Figure 3.1. Mayo Galke près de Tcholliré, Nord-Cameroun, un gîte larvaire quasi pérenne d'espèces de savane (*S. damnosum* s.s. et *S. sirbanum*).



Source: photographie de A. Renz

Ce gîte productif un taux annuel de piqûres (TAP) allant jusqu'à 87 000 piqûres par personne (se reporter au Chapitre 11).

S. damnosum* s.s. (sensu stricto)** et ***S. sirbanum sont des espèces typiques de la savane. Leurs larves et nymphes sont présentes dans les grandes rivières qui s'assèchent ou sont réduites un débit insignifiant selon la saison. Les sites sont repeuplés après la saison sèche par des femelles migratrices.

S. damnosum s.l. se reproduit principalement dans les rapides et les eaux courantes aérées, à deux exceptions près. Premièrement, au plus fort de la saison des pluies, une rivière peut devenir si haute et le débit de l'eau si vif que les rapides rocheux sont inondés. Les larves se reproduisent ainsi de manière dispersée sur les végétaux, comme des branches d'arbres partiellement submergées le long des rives, c'est-à-dire qu'elles ne sont plus concentrées dans les rapides (Fig. 3.2A). C'est ce qu'on appelle la « dispersion linéaire ». La deuxième exception est que, dans certaines zones de savanes, au plus fort de la saison sèche, une rivière peut ne pas s'assécher complètement mais être réduite à un simple filet d'eau. Dans de telles conditions, des amas de larves peuvent être présents aux endroits où le courant est le plus rapide (Fig. 3.2B).

Figure 3.2. A. Dispersion linéaire de larves de *S. damnosum* sur des arbres submergés pendant la saison des pluies. B. Site de reproduction en saison sèche de *S. damnosum* s.s. dans les chutes d'Aruu, dans le nord de l'Ouganda, où un très petit nombre de larves survivent dans des filets d'eau pendant la saison sèche.



A

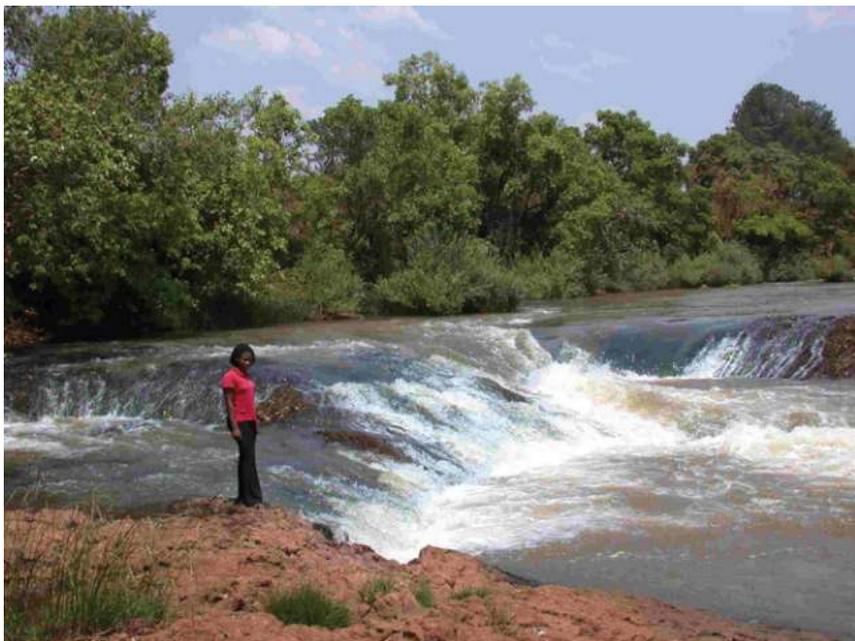


B

Source: photographies de R. Post

S. squamosum se présente sous différentes formes (se reporter au Chapitre 4 sur l'identification des mouches adultes). Dans les zones de savane d'altitude, cette espèce se reproduit principalement dans les rivières pérennes, qui sont parfois assez petites dans les zones montagneuses, ou dans les larges rivières des zones de plaine typiques d'un habitat savanien en Guinée ou au Soudan (Fig. 3.3).

Figure 3.3. Vina du Sud près de Ngaoundéré, Cameroun, un lieu de reproduction annuel pour *S. squamosum* dans la savane guinéenne. Le taux annuel de piqûres peut atteindre 250 000.



Source : photographie de A. Renz

Les larves de *S. squamosum* peuvent aussi être présentes dans de petits affluents dans les forêts (Fig. 3.4), cachées sous la canopée et difficiles à voir sur les cartes satellites. L'espèce partage ce type d'habitat aquatique avec **S. yahense** et **S. mengense**, qui sont deux autres espèces vectrices.

Figure 3.4. Lieu de reproduction dans la forêt tropicale typique pour les larves de *S. squamosum*. Noter la grande densité végétale entourant le site.



Source : photographie de A. Renz

S. sanctipauli est confiné aux forêts tropicales humides d'Afrique de l'Ouest, où les larves préfèrent les grandes rivières ouvertes (Fig. 3.5).

Figure 3.5. A Gîte larvaire de *S. sanctipauli*. Noter le grand nombre de rapides.



Source: photographie de R. Garms

On trouve les larves de *S. soubrense* dans les petites rivières des forêts (Fig. 3.6).

Figure 3.6. Gîte larvaire de *S. soubrense* dans la rivière Bagbé, Côte d'Ivoire.



Source: photographie de R. Garms

Plusieurs formes de *S. damnosum* sont présentes en Afrique de l'Est, dont certaines sont des vecteurs actifs d'*O. volvulus*. Celles-ci incluent les vecteurs typiques de la savane *S. damnosum* s.s. et *S. sirbanum* ainsi que des formes locales qui peuvent être anthropophiles, comme *S. kilibanum*. Un certain nombre d'autres cytoformes

peuvent également être trouvées, dont plusieurs piquent activement les humains. Par exemple, dans le foyer d'onchocercose des monts Mahenge en République-Unie de Tanzanie, les formes Nkusi J de *S. damnosum* et *S. kilibanum* étaient les espèces prédominantes et probablement les vecteurs d'*O. volvulus* (41) (Fig. 3.7).

Figure 3.7. Rivière Mzelezi dans les monts Mahenge, République-Unie de Tanzanie, foyer d'onchocercose. Cette rivière pérenne offre d'excellents gîtes larvaires pour *S. damnosum* s.l.



Source: photographie de A. Hendy

S. rasyani se reproduit dans les oueds permanents à l'ouest du Yémen, qui transportent l'eau de la chaîne de montagnes du Sarawat vers l'ouest jusqu'à la mer Rouge. Les rivières des oueds sont peu profondes et leur débit est d'environ 0,5 à 1 m/s. Le lit est souvent pierreux ou sablonneux et les rapides sont rares. Les larves et les nymphes se trouvent principalement sur les végétaux à moitié submergés le long des rives (Fig. 3.8).

Figure 3.8. Gîte larvaire de *S. rasyani* au Yémen.



Source: photographie de R. Garms

S. albivirgulatum est une espèce vectrice du bassin du Congo, entre les fleuves Tshuapa et Congo. Les larves se reproduisent dans les rivières lentes au débit régulier bordées de forêts galeries (riveraines), où les simulies femelles adultes transmettent le parasite.

Plusieurs espèces de *Simulium*, principalement le groupe *S. neavei* spp en Afrique de l'Est, ont développé une relation phorétique avec des crustacés et de grands insectes aquatiques (éphémères et libellules). *S. neavei*, un vecteur important d'*O. volvulus* en Afrique de l'Est et centrale, est présent dans les cours d'eau où ses larves et nymphes sont fixées à des décapodes du genre *Potamonautes* (crabes d'eau douce). Cette simulie ainsi que d'autres espèces phorétiques sont confinées aux zones forestières ombragées (Fig. 3.9) et disparaissent souvent en cas de déforestation.

S. neavei et *S. ethiopiense* se fixent, surtout en petits nombres (jusqu'à 10 individus), sur le dos et les côtés du céphalothorax (corps), des pinces (chélipèdes) et des segments inférieurs des pattes du crabe. La densité des crabes peut atteindre jusqu'à un crabe par mètre dans les petits affluents, voire 10 ou plus dans les grandes rivières.

Figure 3.9. Rivière dans le foyer d'onchocercose de Mpamba-Nkusi, centre-ouest de l'Ouganda. Les crabes de rivière *Potamonautes*, dotés de larves et de nymphes de *S. neavei*, vivent dans les cascades d'eau trouble et se réfugient dans des trous lorsque la rivière s'assèche.



Source : photographie de T. Lakwo

3.3 Autres types de gîtes larvaires en Afrique

Des biotopes larvaires propices aux larves de simulies peuvent être créés par inadvertance lors de la construction de ponts, de gués, de fossés d'irrigation, de ponceaux routiers, de barrages et d'autres dispositifs destinés à contrôler le débit des rivières. Les Figures 3.10 et 3.11 en sont des exemples.

Figure 3.10. Les grands barrages hydroélectriques créent d'excellents sites de reproduction pour *S. damnosum s.l.*

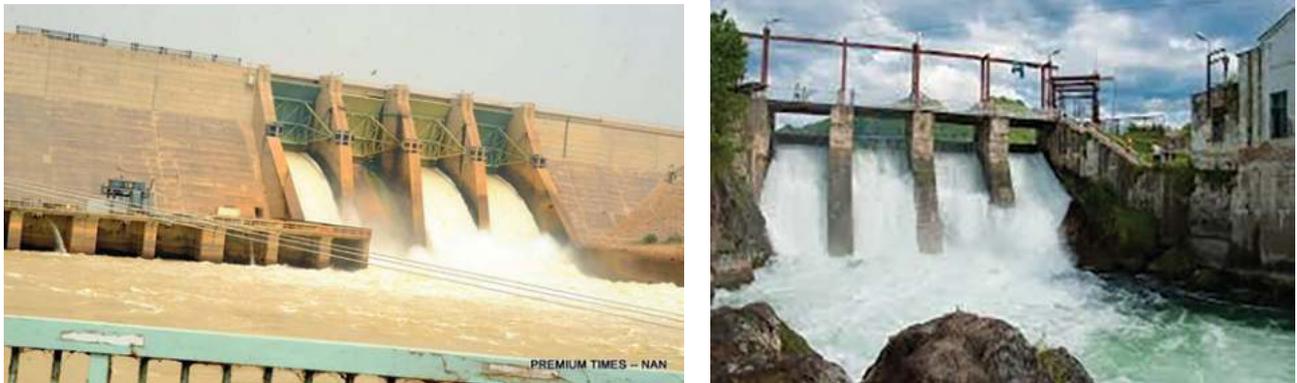


Figure 3.11. Un petit barrage au Nigeria sert de gîte larvaire artificiel pour *S. damnosum s.l.*



Source : photographies de R. Post

3.4 Exemples de gîtes larvaires dans la Région des Amériques

Onchocerca volvulus a été transporté d'Afrique vers les Amériques il y a plusieurs centaines d'années, et des populations de parasites se sont établies dans six pays. Il est intéressant de noter qu'*O. volvulus* a pu s'adapter à un certain nombre d'espèces autochtones de *Simulium* pour compléter cette partie de son cycle de vie. Au total, sept espèces ont été incriminées en tant que vecteurs primaires ou secondaires dans la Région. Avant les AMM menées avec l'ivermectine, environ 70 % de tous les cas survenaient au Guatemala et au Mexique, où le principal vecteur était *S. ochraceum*. Les larves de cette espèce hautement anthropophile sont présentes dans les petits ruisseaux de montagne frais qui coulent toute l'année ; elles préfèrent une température d'eau comprise entre 16 et 20 °C et un débit de 0,1 à 1,0 L/s. Cette espèce a la particularité de pouvoir coloniser des cours d'eau artificiels qui présentent ces caractéristiques physiques, et la reproduction larvaire de *S. ochraceum* est courante dans les plantations de café où l'irrigation est utilisée (Fig. 3.12).

Figure 3.12. Gîte larvaire de *S. ochraceum* dans une plantation de café au Guatemala.



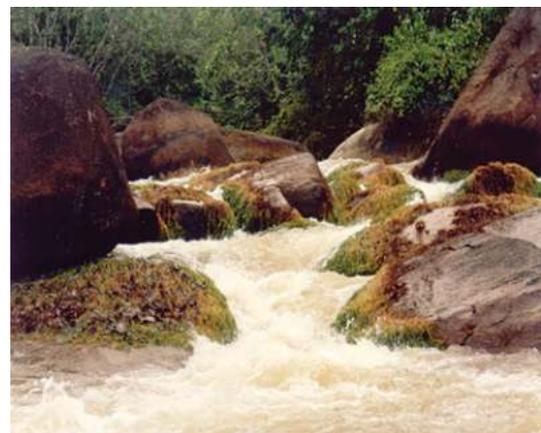
Source : photographie de E. Cupp

Les AMM actuelles avec l'ivermectine ont éliminé environ 95 % des populations d'*O. volvulus* dans les Amériques, et seulement deux foyers transfrontaliers actifs adjacents demeurent le long de la frontière entre le Brésil et la République bolivarienne du Venezuela. Là, le vecteur principal est *S. guianense s.l.*, qui regroupe au moins trois cytoformes (42), dont les larves se trouvent en grands nombres dans les rivières larges à courant rapide et à canopée ouverte, semblable à *S. sanctipauli* (Fig. 3.13).

Figure 3.13. A. Gîte larvaire de *S. guianense* à canopée ouverte. B. Affluent doté de végétation aquatique qui sert de site périphérique pour la reproduction larvaire.



A



B

Source : photographies de O. Noya-Alarcon

3.5 Caractéristiques physicochimiques des gîtes larvaires

Les caractéristiques environnementales des lieux de reproduction sont corrélées à la répartition des différentes espèces de simulies. La température, le pH et la teneur en ions figurent parmi les conditions les plus importantes, mais d'autres facteurs physiques et biologiques déterminent aussi l'adéquation d'un site à la production larvaire,

notamment les paramètres hydrologiques et biologiques qui affectent directement la productivité d'un gîte larvaire de *Simulium*. Par exemple, les conditions hydrologiques des gîtes larvaires de *S. damnosum s.l.* sont une température comprise entre 16 et 24 °C et un pH de 7,7 à 10,0 pour le complexe est-africain, et une température comprise entre 22 et 33 °C et un pH de 5,7 à 6,2 pour le complexe ouest-africain (43, 44). Le débit, la qualité des nutriments, la prédation et l'infection par des agents pathogènes microscopiques régulent les populations larvaires. D'autres facteurs, notamment l'utilisation de produits chimiques agricoles (engrais, insecticides) et leur écoulement dans les ruisseaux et rivières, peuvent aussi réduire ces populations.

Les gîtes larvaires du complexe *S. damnosum* se situent presque toujours dans des eaux vives turbulentes à courant rapide, qui sont souvent associées à la présence de roches dures, de failles géologiques et de changements d'altitude brusques. L'examen des cartes géologiques est souvent utile, car la géologie du socle précambrien est constituée de formations rocheuses et les rapides sont fréquents. Ces cartes (y compris à petite échelle) indiquent également les lignes de faille susceptibles de favoriser la formation de rapides sur les rivières. Les cartes topologiques sont essentielles pour révéler les caractéristiques pertinentes des rapides, de préférence à une échelle de 1/50 000 (ou éventuellement de 1/250 000) (consulter les Chapitres 5 et 6). Elles peuvent inclure des repères indiquant l'emplacement de rapides (ou de cascades) importants sur les rivières. Sur une carte, les rapides sont souvent associés aux emplacements où une rivière apparaît comme étant plus large (moins profonde en raison d'un substrat rocheux dur), avec des îles, ou plus étroite (coulant plus rapidement à travers une gorge), ou accuse un changement de direction abrupte et angulaire (le long d'une ligne de faille).

Les paramètres hydrologiques et écologiques qui déterminent l'adéquation des gîtes larvaires sont donc les suivants :

- niveaux d'eau (m), débit d'eau (m³/s) et saisonnalité ;
- vitesse du courant (m/s) ;
- supports pour les larves et nymphes (plantes, racines, feuilles, rochers) ;
- nutriments (algues, plancton, diatomées, bactéries, débris végétaux) ;
- prédateurs (poissons, libellules pour les larves, et oiseaux et gros insectes pour les mouches adultes) ;
- agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, microsporidies, ciliés et nématodes mermithidés) ; et
- écoulement de produits chimiques agricoles.

3.6 Autres facteurs importants

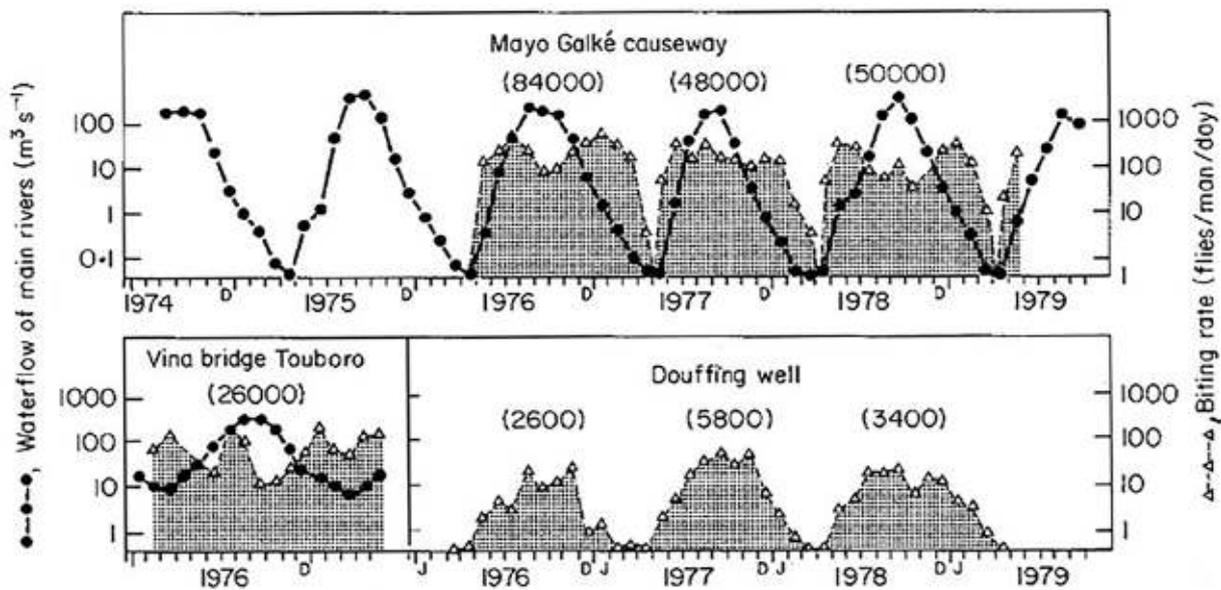
3.6.1 Supports et végétaux associés aux gîtes larvaires de *S. damnosum*

Les femelles gravides recherchent des supports appropriés (feuilles et tiges de plantes, racines ou rochers) et atterrissent et rampent sous l'eau pour pondre. La principale condition est que le support doit être exempt d'algues ou de diatomées qui pourraient empêcher la fixation des larves. Les larves plus grosses peuvent nettoyer le support avec leurs pièces buccales (Chapitre 2) avant de s'y fixer à l'aide de leur couronne de crochets abdominale. Un support artificiel, comme une bande de plastique, peut servir de site de ponte pour les études de recensement des populations.

3.6.2 Données hydrologiques sur la hauteur d'eau et le débit des rivières

Dans de nombreux systèmes fluviaux en Afrique, les données hydrologiques sur les niveaux d'eau et le débit des rivières ont été enregistrées quotidiennement pendant de nombreuses années (voir par exemple la référence 45). La variabilité des niveaux d'eau étant considérable au cours de l'année dans la savane, allant de quelques litres par seconde à des centaines de mètres cubes par seconde lors des crues à la saison des pluies, les graphiques logarithmiques du débit d'eau et du taux quotidien de piqûres peuvent souvent être mis en corrélation (Fig. 3.14).

Figure 3.14. Données hydrologiques (m^3/s) et entomologiques (taux quotidien de piqûres) pour certains gîtes larvaires saisonniers et pérennes non traités de *Simulium* spp dans la savane du nord du Cameroun.



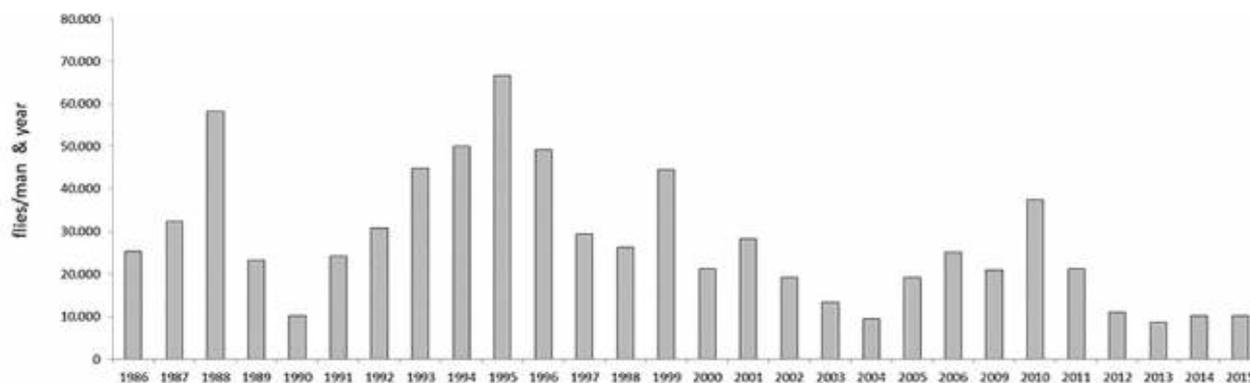
Source: référence 46

Noter les échelles logarithmiques.

3.6.3 Variations saisonnières et annuelles de la productivité des gîtes larvaires

Bien les taux de piqûres chez l'homme attestent d'une certaine dynamique saisonnière, il est difficile, voire impossible, de prédire le taux de productivité mensuel (émergence d'imagos) d'un gîte larvaire local. Dans les grands fleuves, les populations ont tendance à se constituer au début des pluies puis à la fin de la saison sèche. Dans les rivières saisonnières, les gîtes larvaires ne sont productifs que pendant la saison des pluies quand l'eau s'écoule. La taille réelle des populations de simuliés dans un gîte et à une période donnée (mois) peut différer considérablement d'une année à l'autre (Fig. 3.15). Cette variation est un argument de poids en faveur d'un suivi entomologique rigoureux et régulier, utilisant les mêmes méthodes, afin d'obtenir des données significatives corrélées et analysées.

Figure 3.15. Variations des taux annuels de piqûres à la rivière Vina du Nord à Soramboum, au Cameroun, sur une période de 28 ans.



Source: données de A. Renz

Noter la tendance générale à la baisse des populations de simules au fil du temps.

3.7 Récapitulatif

Les simules se reproduisent en général dans les rivières et les ruisseaux au courant rapide, qui sont bien aérés ou oxygénés, tandis que d'autres se reproduisent dans de petits ruisseaux. La présence de populations importantes de simules dans un gîte larvaire indique que les cours d'eau sont propres et sains, car la plupart des espèces ne tolèrent aucune pollution organique.

Les gîtes larvaires diffèrent considérablement parmi les principaux vecteurs d'*O. volvulus*. Par exemple, on trouve habituellement les larves de *S. damnosum s.l.* le long des grandes rivières aux cours d'eaux rapides, alors que *S. ochraceum* dans les Amériques se reproduit dans des zones, où les larves peuvent survenir dans une multitude de très petits ruisseaux et filets d'eau largement répartis. *Simulium damnosum s.l.* peut se reproduire pendant la saison sèche, lorsque les niveaux d'eau chutent brusquement et que les larves habitent de petits filets d'eau.

Les larves et nymphes phorétiques de *Simulium* se fixent sur les crabes de rivière *Potamonautes spp* ainsi que les larves de libellules en Afrique de l'Est et centrale, généralement dans les rivières de petite taille où les crabes vivent dans de petits trous.

Tous les gîtes larvaires potentiels des simules vectrices présentent une variété de supports aquatiques tels que des graminées, des feuilles et tiges, des brindilles, des racines de plantes et des roches pour la fixation des stades préimaginaux ou aquatiques (œufs, larves et nymphes). Quel que soit le support, le critère le plus important est qu'il soit immobile et immergé dans l'eau. Les rapides turbulents se forment aux emplacements où des roches de surface dures et résistantes affleurent dans les chenaux des rivières, tandis que les rivières coulent de façon régulière aux endroits où la surface est formée de roches sédimentaires moins dures.

Les populations de simules varient selon l'année et la saison, ce qui nécessite une surveillance longitudinale normalisée. Les structures artificielles comme les barrages et les ponceaux créent souvent des gîtes larvaires pour les simules et doivent également être surveillées.

Chapitre 4.

Identification des simulies vectrices en Afrique

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 4

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- reconnaître les œufs, les larves, les nymphes et les adultes (imagos) de simulies ;
- distinguer les larves, les nymphes et les imagos du complexe d'espèces *S. damnosum* et du groupe *S. neavei* de ceux d'autres simulies ;
- reconnaître la valeur diagnostique et la variabilité de certaines caractéristiques taxonomiques larvaires propres au complexe d'espèces *S. damnosum* ;
- utiliser la clé taxonomique larvaire pour identifier les principaux sous-genres de *Simulium* spp et confirmer la présence d'espèces vectrices ;
- utiliser les principales caractéristiques des nymphes pour confirmer la présence d'espèces vectrices ; et
- utiliser les caractéristiques morphologiques des imagos pour identifier les *Simulium* spp Africains anthropophiles.

4.1 Introduction

Les simulies vectrices sont identifiées en deux à trois étapes. Premièrement, le spécimen collecté doit être identifié comme une simulie, ce qui nécessite une bonne connaissance des différents stades de l'insecte. Deuxièmement, si le spécimen collecté est une simulie, il faut alors en déterminer la morpho-espèce (en utilisant ses caractères structurels externes) ou au moins l'espèce vectrice. Troisièmement, si le spécimen fait partie d'un complexe d'espèces, il faut en déterminer la cyto-espèce, qui ne peut pas être identifiée à partir de caractères morphologiques et doit être différenciée à partir de caractères chromosomiques uniques (Chapitre 7).

L'inventaire mondial des simulies (47) comprend trois sous-genres de *Simulium* qui incluent des espèces vectrices, à savoir : i) *Edwardsellum* (55 cyto-espèces ou cytotypes valides et distincts, et plusieurs morpho-espèces nommées sans origine cytologique) (48) ; ii) *Lewisellum* (15 espèces, dont le groupe *S. neavei*) ; et iii) *Metomphalus*, qui compte une espèce, *S. albivirgulatum*. Collectivement, ce sont les vecteurs d'*O. volvulus* en Afrique. Au sein de ces sous-genres se trouvent plusieurs morphotypes, cytotypes et formes moléculaires en attente de clarification de leur statut d'espèce jumelle et de l'accord des systématiciens spécialisés dans la famille des Simuliidae. La répartition connue des taxons vecteurs en Afrique, y compris leurs habitats, est présentée dans le Tableau 4.1.

Tableau 4.1. Simulies vectrices d'*O. volvulus* et distribution sur le continent africain.

Sous-genre	Taxon	Région géographique, pays	Habitat et épidémiologie
<i>Edwardsellum</i>	Sous-complexe <i>S. damnosum</i>	Afrique, au sud du Sahara	Savane
	<i>S. damnosum</i> <i>sensu stricto</i>	Afrique de l'Ouest, centrale et de l'Est ; Angola, Bénin, Botswana, Burkina Faso, Burundi, Cameroun, République centrafricaine, Tchad, Congo, Côte d'Ivoire, République démocratique du Congo, Guinée équatoriale (y compris Bioko), Éthiopie, Gabon, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Kenya, Libéria, Malawi, Mali, Mozambique, Namibie, Niger, Nigeria, Rwanda, Sénégal, Sierra Leone, Somalie, Afrique du Sud, Soudan du Sud, Soudan, Swaziland, Togo, République-Unie de Tanzanie, Zambie, Zimbabwe	Savane
	<i>S. sirbanum</i>	Bénin, Burkina Faso, Cameroun, République centrafricaine, Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée-Bissau, Mali, Niger, Nigeria, Sierra Leone, Soudan, Togo, Ouganda	Savane sèche
	<i>S. dieguerense</i>	Afrique de l'Ouest ; Guinée, Mali	Savane
	Sous-complexe <i>S. sanctipauli</i>	Afrique de l'Ouest	Forêt
	<i>S. sanctipauli</i>	Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée, Libéria, Mali, Nigeria, Forêt Sierra Leone, Togo	
	<i>S. soubrense</i>	Bénin, Côte d'Ivoire, Ghana, Guinée, Libéria, Mali, Nigeria, Sierra Leone, Togo	Forêt

(suite)

Tableau 4.1. (Suite)

Sous-genre	Taxon	Région géographique, pays	Habitat et épidémiologie
	<i>S. leonense</i>	Guinée, Libéria, Sierra Leone	Forêt
	<i>S. konkourense</i>	Guinée, Guinée-Bissau, Libéria, Sierra Leone	Forêt, montagnes
	Sous-complexe <i>S. squamosum</i>	Afrique de l'Ouest, centrale et de l'Est	Forêt, montagnes
	<i>S. kaffaense</i>	Éthiopie	Montagnes
	<i>S. squamosum sensu stricto</i>	Cameroun, Bénin, République centrafricaine, Côte d'Ivoire, République démocratique du Congo, Ghana, Guinée, Libéria, Nigeria, Sierra Leone, Togo	Forêt, montagnes
	<i>S. yahense</i>	Bénin, Cameroun, Côte d'Ivoire, Guinée équatoriale, Ghana, Guinée, Libéria, Nigeria, Sierra Leone, Togo	Forêt, hauts plateaux
	Sous-complexe de Kibwezi	Afrique centrale et de l'Est	Forêt, montagnes
	<i>S. mengense</i>	Afrique centrale ; Cameroun	Forêt
	Sous-complexe de Sanje	Afrique de l'Est à l'Afrique australe	Mosaïque forêt-savane et montagnes
	<i>S. kilibanum</i>	Burundi (?), République démocratique du Congo, Ouganda, République-Unie de Tanzanie (?)	Forêt, montagnes
	<i>S. thyolense</i>	Malawi, République-Unie de Tanzanie	Forêt, montagnes
<i>Lewisellum</i>	Groupe <i>S. neavei</i>	Afrique centrale et de l'Est	Forêts d'altitude (principalement)
	<i>S. neavei</i>	Angola (?), République démocratique du Congo, Kenya, Ouganda	Forêts d'altitude (principalement)
	<i>S. woodi</i>	Malawi, République-Unie de Tanzanie, Zambie (?)	Forêts d'altitude (principalement)
	<i>S. ethiopiense</i>	Éthiopie	Forêts d'altitude (principalement)
<i>Metomphalus</i>	<i>S. albivirgatum</i>	Afrique centrale et australe ; Angola, Botswana, République démocratique du Congo, Congo, Gabon, Afrique du Sud, Zambie, Zimbabwe	Forêt de plaine

Il existe 2384 espèces de simulies dans le monde, mais la grande majorité ne sont pas anthropophiles, c'est-à-dire qu'elles ne piquent pas les humains. Un petit nombre sont autogènes (c.-à-d. les femelles peuvent produire des œufs sans repas de sang), mais les autres sont zoophiles et piquent des mammifères non humains et/ou des oiseaux. Quelques espèces zoophiles se posent sur les humains mais ne prennent généralement pas de repas de sang (p. ex., *S. griseicollis* au Soudan). D'autres espèces zoophiles piquent occasionnellement les humains, surtout lorsqu'ils sont à proximité de l'hôte normal de la simulie. Par exemple, *S. vorax* pique habituellement le bétail, mais peut à l'occasion s'attaquer aux éleveurs. Certaines espèces normalement zoophiles piquent régulièrement (et inexplicablement) les humains dans certaines parties seulement de leur aire de répartition géographique. On citera en exemple *S. bovis* dans le nord de l'Ouganda et *S. dentulosum*, qui ne transmettent pas *O. volvulus*, et *S. albivirgatum* dans le centre de la République démocratique du Congo, qui transmet le parasite.

L'identification correcte des vecteurs d'*O. volvulus* en Afrique est indispensable au succès des programmes d'élimination afin de suivre les progrès, de confirmer l'interruption de la transmission ou de mettre en œuvre la lutte antivectorielle en plus de l'AMM. La morphotaxonomie des femelles adultes de *S. damnosum sensu lato* (s.l.) et de *S. neavei* nécessite la recherche de caractères morphologiques uniques pour différencier et classer les spécimens en groupes génériques et spécifiques. Celles-ci sont décrites ici, avec des données pour d'autres *Simulium* spp.

L'objectif de ce chapitre est de développer les informations de base présentées au Chapitre 2 et de présenter au lecteur certaines caractéristiques morphologiques fiables utilisées pour identifier les espèces de *S. damnosum* s.l. et d'autres vecteurs impliqués dans la transmission d'*O. volvulus*. Les clés de détermination des différents stades (préimaginaux et imaginal) sont illustrées et les caractères morphologiques diagnostiques les plus importants sont mis en évidence.

4.2 Comment reconnaître que les spécimens collectés sont des œufs, larves, nymphes ou imagos de Simuliidae et non d'autres insectes

4.2.1 Œufs de simulies

Les œufs de simulies sont déposés en amas gluants sur des supports submergés, tels que des roches, des feuilles et d'autres végétaux aquatiques, ou parfois sur des supports qui émergent de la surface de l'eau mais se trouvent dans une zone d'éclaboussure. Ils mesurent 0,15 à 0,20 mm sur leur grand axe et sont de formes ovales ou triangulaires (Fig. 4.1). Le chorion des œufs de simulies n'est pas épaissi et est sensible à la dessiccation.

Figure 4.1. A. Grappe de vieux œufs sur de la végétation. B. Lots d'œufs typiques sur un support; le lot inférieur montre les premiers instars qui viennent d'éclorer. L'illustration en encadré (à droite) illustre la forme triangulaire des œufs de simulies.

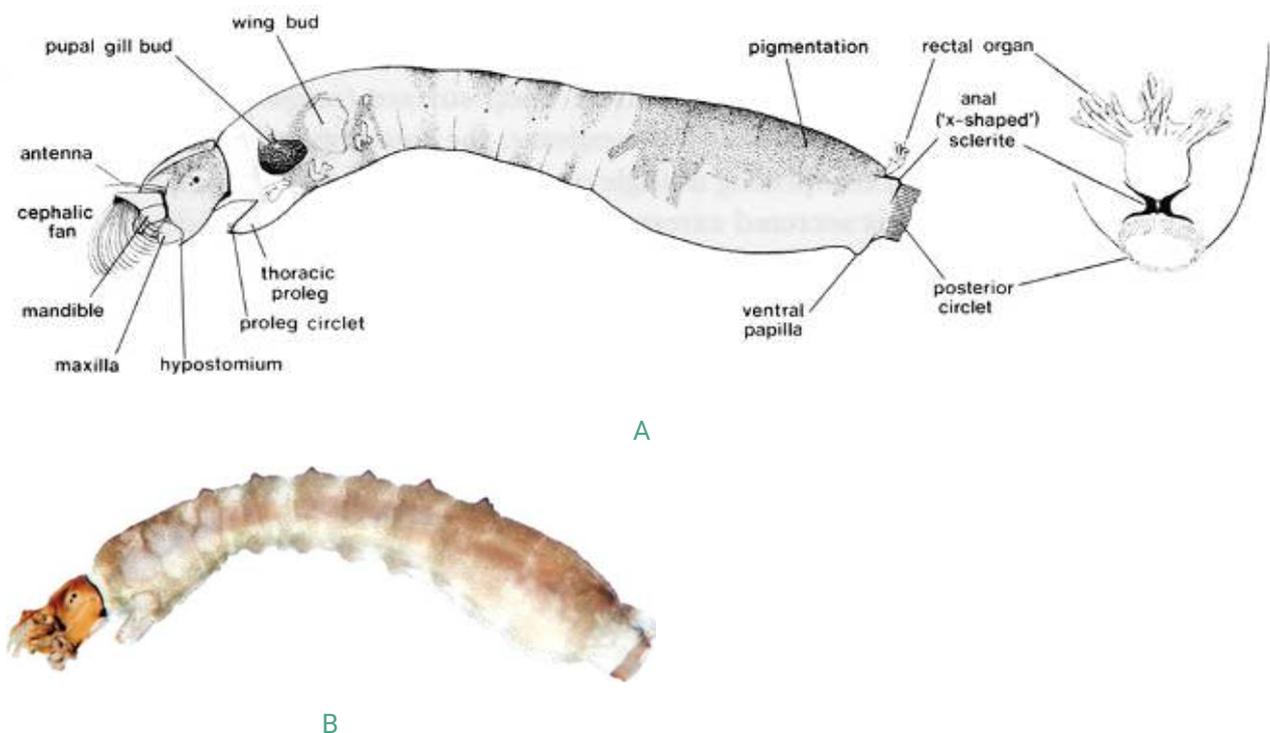


Source : photographies de A. Krueger; illustration extraite de la référence 49 (Fig. 6.1, p. 243)

4.2.2 Larves de similies

Certains caractères des larves de *Simulium* permettent de les distinguer d'autres insectes aquatiques. La **capsule céphalique** est plus fortement définie que le thorax et l'abdomen, qui ne sont que faiblement segmentés. La tête est en général sombre et comporte une paire de couronnes de soies proéminentes, ou éventails céphaliques, qui filtrent les particules alimentaires. Le thorax et l'abdomen sont séparés par une zone légèrement plus étroite. À la face ventrale, le **thorax** porte un pseudopode antérieur non apparié très caractéristique, aussi appelé fausse-patte thoracique, qui est armé d'une petite couronne de minuscules crochets. La moitié postérieure de l'**abdomen** est en forme de massue et souvent pigmentée sur sa face dorsale. L'abdomen se termine par un **disque ou pseudopode postérieur** doté lui aussi d'une couronne de petits crochets. Dorsalement, juste avant le pseudopode postérieur se trouve le sclérite anal, ou sclérite X, dont le processus rectal peut être extrudé.

Figure 4.2. A. Caractères morphologiques d'une larve de similie; B. Photographie d'une larve de similie (*S. damnosum* s.l.).



Sources: illustration extraite de la référence 50; photographie de A. Krueger

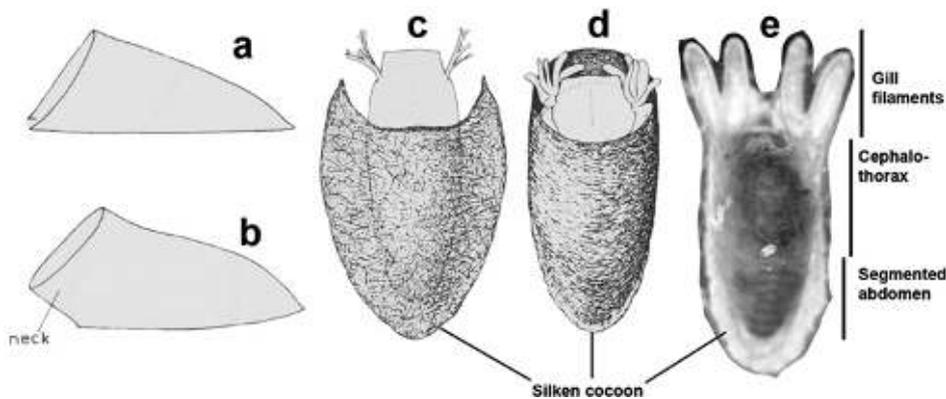
D'autres structures à valeur diagnostique comprennent les antennes, les mandibules, les maxillaires, l'hypostome, l'histoblaste des branchies nymphales (histoblaste respiratoire), le sclérite anal et les papilles ventrales. La taille des larves du dernier stade varie considérablement selon les espèces, de 3,4 à 12 mm, la plupart mesurant 5 à 10 mm.

4.2.3 Nymphes de similies

Chez la plupart des espèces, le dernier stade larvaire tisse un **cocon de soie** à l'intérieur duquel a lieu la nymphose. La structure et l'aspect du cocon sont très caractéristiques. Il peut être en forme de babouche ou de chaussure (Fig. 4.3 A, B), avec une marge antérieure ouverte ou fermée (Fig. 4.3 C, D) mais sera toujours positionné avec l'extrémité caudale fermée orientée vers l'amont et l'extrémité ouverte vers l'aval du courant d'eau. En général, la couleur du cocon est pâle au début et s'assombrit à mesure que la nymphe se développe. La taille des nymphes de similie varie, également en fonction de la taille des larves, mais elles mesurent habituellement de 3 à 5 mm (sans les branchies).

La tête et le thorax de la nymphe forment un seul céphalothorax et l'abdomen est segmenté (Fig. 4.3 E). Ce dernier porte de minuscules épines et crochets qui accrochent les fils du cocon et maintiennent la nymphe en place. Le céphalothorax porte une paire de **branchies nymphales** plus ou moins allongées et ramifiées, qui traînent en aval du cocon. Chez certaines espèces, cependant, les branchies sont courtes et dépassent à peine le bord du cocon. Leurs formes et leurs ramifications constituent des caractères très importants pour l'identification des espèces (consulter le Tableau 4.2). Les membres du complexe ***S. damnosum*** ont des cocons fermés en forme de chaussure (Fig. 4.3 B, D), alors que les cocons ouverts des espèces du groupe ***S. neavei*** sont en forme de babouche (Fig. 4.3 A, C).

Figure 4.3. Caractères des nymphes de simulies. A. Cocon en forme de babouche. B. Cocon en forme de chaussure. C. Cocon ouvert. D. Cocon fermé. E. Spécimen original (*S. griseicollae*) avec caractères nymphaux.



Sources: A à D. Adapté de la référence 50; E. Photographie de A. Krueger

Les imagos (adultes) émergent de la cuticule nymphale par une fente située à l'arrière du thorax et sont entraînés vers la surface dans une bulle d'air.

4.2.4 Simulies adultes (imagos)

Les imagos sont petits (2 à 7 mm), sombres, robustes et de forme bossue (voir Fig. 2.1) ; ils sont généralement de plus grande taille que les Cératopogonides suceurs de sang (moucheron piqueurs).

Tête : La tête d'une simulie adulte comporte des **yeux composés** bien visibles, qui présentent un dimorphisme sexuel (voir Fig. 2.2). Les yeux d'un mâle typique sont holoptiques, à savoir contigus (absence de front), tandis que les yeux de la femelle sont dichoptiques, c'est-à-dire séparés par un front. Les **courtes antennes glabres** sont les mêmes chez les deux sexes et sont constitués de petits segments en forme de disque, compactés pour produire un aspect perlé. Contrairement aux autres mouches nématocères, les antennes des simulies ne sont couvertes que de minuscules poils courts. Le plus souvent, il existe 11 segments d'antenne, ou articles.

Thorax : L'aspect typique ramassé ou bossu des simulies provient de la section médiane dorsale proéminente et bombée du thorax, le **mésnotum** (ou scutum). Chez de nombreuses espèces, le mésnotum présente des motifs de couleur caractéristiques ou peut être couvert d'écaillés à reflet métallique, argentées ou dorées, mais il existe un dimorphisme sexuel prononcé. Le **ailés** sont courtes (1,5 à 6,0 mm), larges, incolores et transparentes, avec un grand lobe anal et une nervation caractéristique (voir Figures 4.9 et 4.10 ci-dessous). Les nervures radiales sont bien développées le long du bord antérieur de l'aile, avec des nervures postérieures médianes et cubitales moins prononcées. Le secteur de la radiale peut être bifurqué ou simple. Il existe un pli sous-médian fourchu entre les nervures médiane (M2) et cubitale (Cu1). Bien qu'elles paraissent faibles, les ailes sont très efficaces et certaines espèces de Simuliidae peuvent voler sur plusieurs kilomètres en l'absence de vent.

Abdomen : L'abdomen est composé de huit segments, dont les trois derniers constituent le genitalia et ne sont pas évidents. Chez la femelle, ces segments terminaux (les deux ou trois derniers segments visibles de l'abdomen, dotés d'appendices permettant l'accouplement) sont compacts et relativement discrets. Les segments abdominaux dorsaux (tergites) de nombreuses espèces de simulies sont pourvues d'écaillles argentées ou dorées formant des groupes ou des rayures.

Les mâles diffèrent des femelles en ce qu'ils possèdent une bosse plus grande sur le thorax, des yeux rougeâtres plus larges, différents motifs d'ornementation du mésonotum et un abdomen plus mince, qui se termine par une paire de gonopodes, généralement visibles.

4.3 Comment reconnaître que les spécimens collectés sont des larves, nymphes ou imagos appartenant au complexe *Simulium damnosum* et au groupe *Simulium neavei* et non à d'autres espèces de simulies

4.3.1 Identification spécifique des larves de la similie

On ne peut différencier les œufs d'une espèce de similie de ceux d'une autre.

a) Stades larvaires (instars)

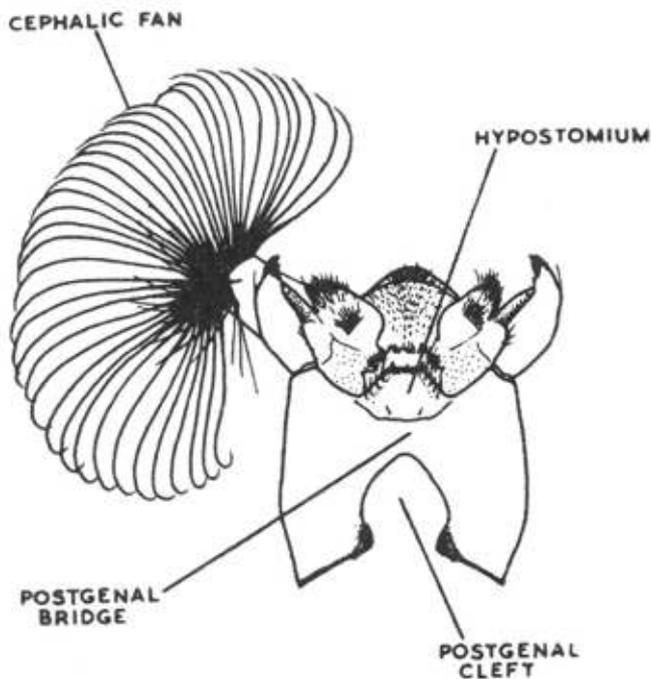
Bien que l'identification spécifique des larves de simulies s'applique généralement aux larves « matures », c'est-à-dire du 6^e ou 7^e stade, il peut être nécessaire de différencier les stades antérieurs. La Figure 2.3 illustre les différences relatives de taille des stades larvaires de *S. damnosum*, et le Chapitre 2 donne une description générale des principaux caractères morphologiques de chaque stade.

b) Identification des larves des espèces africaines de *Simulium* spp

La plupart des caractères larvaires varient au cours du développement. Par exemple, le nombre de rayons dans les éventails céphaliques (Fig. 4.4), le nombre de rangées de crochets dans les couronnes des pseudopodes antérieurs (Fig. 4.2A), le nombre de segments d'antenne (Fig. 2.3) et le nombre de lobules secondaires dans les branchies anales augmentent toutes à mesure que la larve se développe. Après avoir atteint quatre segments, les segments d'antenne continuent de changer de longueur. Deux caractéristiques cependant, la forme de l'**hypostome** et la forme de l'**échancrure ventrale**, semblent plutôt constants au cours de la maturation de la larve, bien que la taille réelle de ces structures augmente naturellement au cours des stades successifs à mesure que la capsule céphalique se développe.

La forme de l'échancrure ventrale est peut-être le caractère taxonomique le plus important pour l'identification des larves des espèces de simulies africaines, et peut permettre d'identifier même les plus petites larves. Avec l'hypostome, cette échancrure est d'une utilité fondamentale pour déterminer correctement un sous-genre quand l'espèce réelle ne peut pas l'être. L'hypostome de type « Neavei » (Fig. 4.7) n'est trouvé que chez les larves du groupe d'espèces *S. neavei* et pas chez d'autres espèces de simulies d'Afrique ; il s'agit donc d'un diagnostic pour ce groupe (sous-genre *Lewisellum*). Si ce caractère taxonomique est observé chez des larves aux tout premiers stades avant leur fixation sur un hôte phorétique, ces larves peuvent être distinguées des larves qui ne sont pas du groupe *S. neavei* vivant dans le même habitat.

Figure 4.4. Caractères de la tête larvaire utilisée pour l'identification. Vue ventrale. Un seul des éventails céphaliques est représenté.

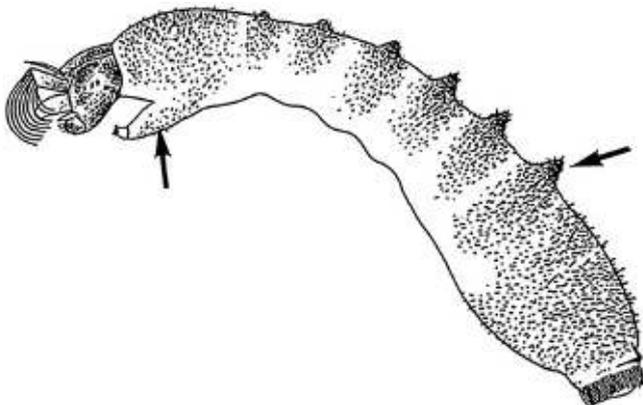


Source : référence 52

c) Caractères uniques des larves de *S. damnosum*

Les larves de *S. damnosum* s.l. sont de taille moyenne, souvent sombres avec un revêtement d'écailles serrées sur l'ensemble du corps, contrairement aux autres simulies d'Afrique, mais le caractère le plus fiable pour l'identification spécifique est le revêtement de soies denses recouvrant le pseudopode antérieur (Fig. 4.5). D'autres espèces de simulies peuvent avoir des écailles corporelles denses, mais aucune autre espèce africaine n'en possède sur le pseudopode. *S. damnosum* s.l. est également pourvu de tubercules dorsaux abdominaux, que l'on ne retrouve chez aucune autre simulie d'Afrique, mais ceux-ci sont parfois assez petits et visibles uniquement au microscope.

Figure 4.5. Larve de *S. damnosum* s.l. pourvu d'écailles sur le pseudopode antérieur et de tubercules dorsaux abdominaux (flèches).

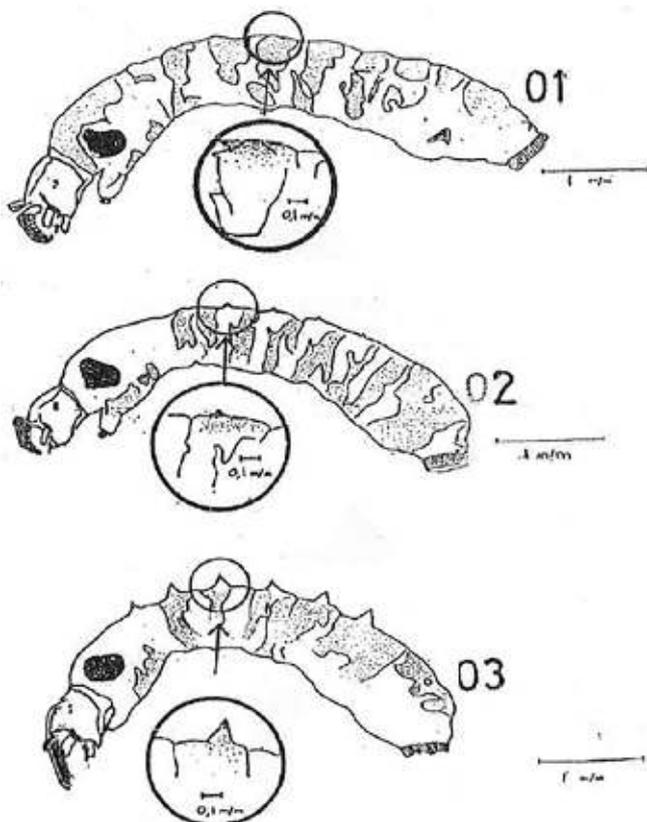


Source : référence 49

d) Utilisation des tubercules dorsaux larvaires pour l'identification des cyto-espèces de *S. damnosum* s.l.

Dans certaines circonstances, les variations morphologiques des tubercules dorsaux se sont avérées utiles pour identifier certains groupes de taxons au sein du sous-genre *Edwardsellum*. La Figure 4.6 montre ces variantes chez les larves des groupes *S. sanctipauli/soubrense*, *S. sirbanum/damnorum* s.s. et *S. squamosum/yahense*. Cette information s'applique aux espèces d'Afrique de l'Ouest, mais certains taxons, comme *S. sanctipauli/soubrense*, ne peuvent pas être identifiés uniquement par leurs tubercules, d'autres espèces répandues (comme *S. cervicornutum*) pouvant présenter des caractères semblables. Des variantes similaires ou convergentes peuvent également être trouvées parmi les cyto-espèces d'Afrique de l'Est.

Figure 4.6. Classification OCP des larves du complexe *S. damnosum* selon les variations morphologiques des tubercules dorsaux. 01 : *S. sanctipauli/soubrense*; 02 : *S. sirbanum/damnorum* s.s. ; 03 : *S. squamosum/yahense*.



La clé suivante a été préparée pour identifier les larves de stades ultérieurs des espèces africaines de *Simulium* spp selon Crosskey (51).

Clé des larves aux stades ultérieurs des principaux sous-genres de *Simulium* dans la région afro-tropicale continentale, avec mise en évidence des espèces, groupes et complexes anthropophiles

L'évaluation de certains caractères exige un montage supplémentaire entre lame et lamelle et l'utilisation d'un microscope composé. Il n'existe pas de clé larvaire universelle pour toutes les espèces de simulies africaines.

1. Larves fixées aux crabes. Hypostome avec une rangée relativement régulière de 13 dents apicales et de forme semblable à celle de la Fig. 4.7A : **Groupe *S. neavei* (sous-genre *Lewisellum*)**

Larves non fixées aux crabes, ou hypostome différent de celui de la Fig. 4.7A : Aller à 2.

2. Thorax, y compris le pseudopode et l'abdomen, pourvu d'écailles ou de soies similaires à des écailles (Fig. 4.5). Les cinq premiers segments abdominaux avec des tubercules coniques dorso-latéraux appariés sont particulièrement recouverts de soies, ce qui les rend visibles même lorsqu'ils sont plus petits que la normale : **Complexe *S. damnosum* (sous-genre *Edwardsellum*)**

Cuticule du corps généralement dépourvu de revêtement. Si présent (*S. albivirgulatum*) avec des écailles simples et bien visibles, celles-ci ne s'étendent pas jusqu'au pseudopode. Abdomen dépourvu de tubercules ou légèrement renflé mais sans soies : Aller à **3**.

3. Larves fixées aux nymphes d'éphémères ou aux crevettes de rivière. Hypostome parfois de forme unique, comme sur la Fig. 4.7B : **sous-genre *Phoretomyia*** ; comprend *S. dukei* qui pique occasionnellement les humains

Larves non fixées à un hôte phorétique. Hypostome ne présentant pas cette forme (Fig. 4.7C, D) : Aller à **4**.

4. Cuticule thoracique et abdominale avec un type de soies aplaties en forme d'écailles (Fig. 4.7E). Échancrure ventrale allongée, légèrement elliptique et peu arrondie (Fig. 4.7F). Vecteur dans le bassin du Congo : ***S. albivirgulatum* (sous-genre *Metomphalus*)**

Cuticule glabre ou dotée d'un revêtement différent ; si des soies abondantes sont présentes sur la cuticule du thorax et de l'abdomen, alors il s'agit de minuscules « poils » ou sont en forme d'éventail. Échancrure ventrale différente : Aller à **5**.

5. Cuticule dorsale avec de minuscules écailles dressées en forme d'éventail et des soies simples épineuses, **et** abdomen dépourvu de papilles ventrales : **sous-genre *Byssodon* ; comprend l'espèce *S. griseicolle*** qui pique occasionnellement les humains

Cuticule soit dépourvue de soies en éventail profondément divisées, soit, le cas échéant, pourvue de soies principalement couchées **et** abdomen doté de papilles ventrales : Aller à **6**.

6. Papilles ventrales présentes, parfois petites et arrondies : Aller à **7**.

Papilles ventrales absentes : Aller à **9**.

7. Capsule céphalique avec ornementation en positif de taches sombres : **Sous-genre *Nevermannia***

Capsule céphalique avec ornementation en négatif de plages claires entourées de pigmentation sombre ou, en présence de taches céphaliques sombres, abdomen dépourvu de papilles ventrales : Aller à **8**.

8. Échancrure ventrale large et arrondie. Papilles ventrales parfois arrondies et petites, relativement peu visibles : **sous-genre *Meilloniellum* ; comprend l'espèce *S. adersi* qui pique occasionnellement les humains**

Échancrure ventrale ne présentant pas cette forme. Papilles ventrales coniques, bien développées : **sous-genre *Pomeroyellum***

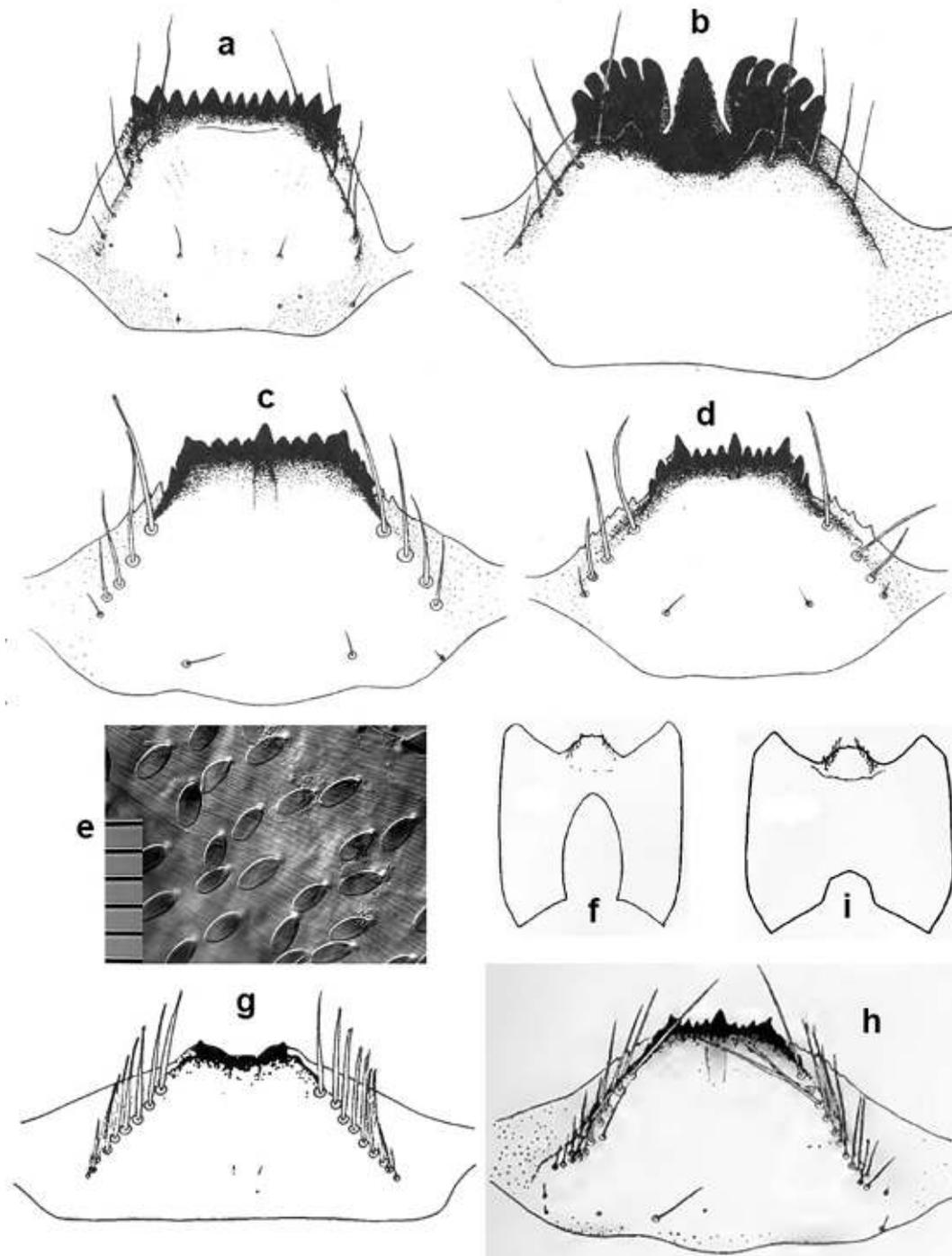
9. Cuticule abdominale glabre. Bords latéraux de l'hypostome (en dehors des rangées de soies) très élargis et dents hypostomiales très réduites (Fig. 4.7G) : **sous-genre *Freemanellum***

Cuticule abdominale, au moins dans la partie postéro-dorsale, pourvue de petites écailles ou de minuscules soies simples et clairsemées. Bords latéraux de l'hypostome moins élargis, dents hypostomiales moins réduites (Fig. 4.7H) : Aller à **10**.

10. Échancrure ventrale réduite, beaucoup plus courte que le pont hypostomal et formant une échancrure quadrangulaire (Fig. 4.7i). Branchies rectales toujours avec de nombreux lobes secondaires : **sous-genre *Anasolen* ; comprend l'espèce *S. dentulosum* qui pique occasionnellement les humains**

Échancrure ventrale large et pont hypostomal plus court que l'échancrure. Branchies rectales simples ou composées : **sous-genre *Metomphalus* (à l'exclusion de *S. albivirgulatum*) ; comprend l'espèce *S. bovis* qui pique occasionnellement les humains**

Figure 4.7. Caractères distinctifs de trois structures des larves de simulies d'Afrique utilisées pour l'identification. A. Type d'hypostome trouvé uniquement chez *S. neavei* et ses alliés; B. Hypostome distinct de *S. beneri* (sous-genre *Phoretomyia*); C et D. Type d'hypostome trouvé chez la grande majorité des espèces de *Simulium*; E et F. Écailles cuticulaires et échancrure ventrale de *S. albivirgulatum*; G. Hypostome du sous-genre *Freemanellum*; H et I. Hypostome et échancrure ventrale du sous-genre *Anasolen*.



Sources: A à D et F à I. Références 50,51; E. Photographie de A. Krueger

Remarque: Les images de larves (ou nymphes) inconnues réalisées sous microscopie de dissection avec l'appareil photo d'un smartphone ou un appareil photo numérique permettent de consigner un enregistrement permanent en vue d'établir un inventaire local des spécimens collectés. Ces images peuvent également être envoyées par courrier électronique à des spécialistes pour une évaluation plus approfondie et une éventuelle identification. L'appareil photographique utilisé doit s'adapter étroitement à l'oculaire d'un microscope de dissection, et une série d'images (latérales, dorsales, ventrales) doit être réalisée pour chaque spécimen inconnu.

4.3.2 Identification spécifique des nymphes de simulies

La longueur et la forme, le nombre et les branches ou la disposition des filaments respiratoires branchiaux des nymphes sont caractéristiques de nombreuses espèces et fournissent des critères taxonomiques utiles pour l'identification (Tableau 4.2).

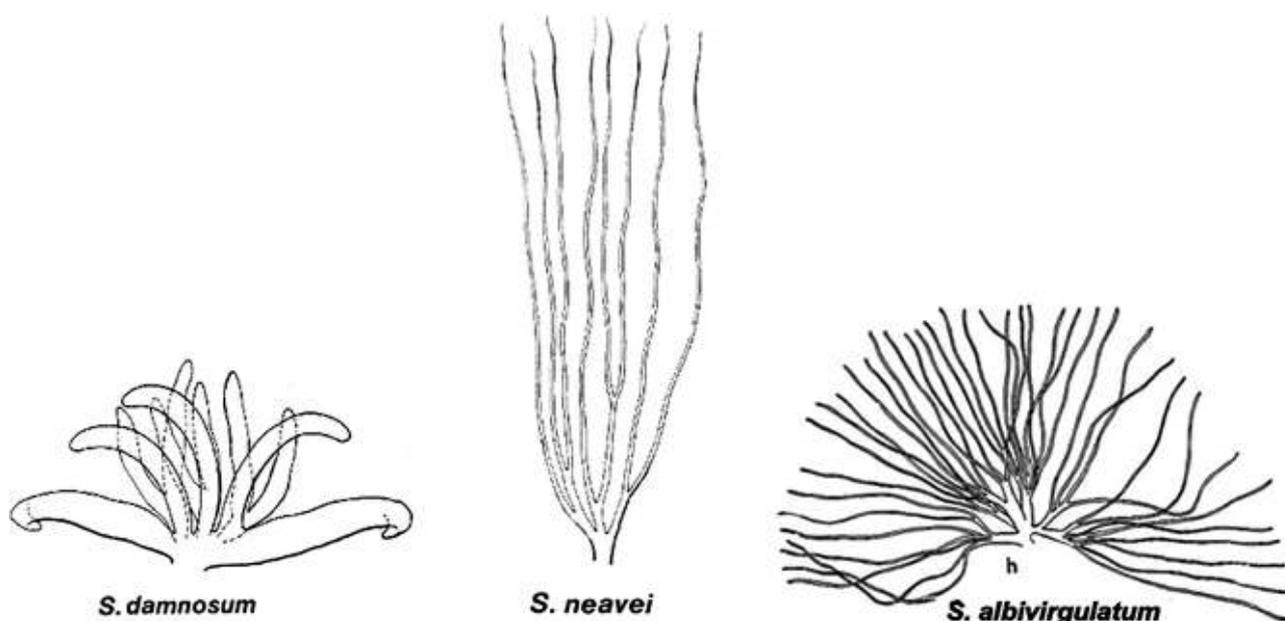


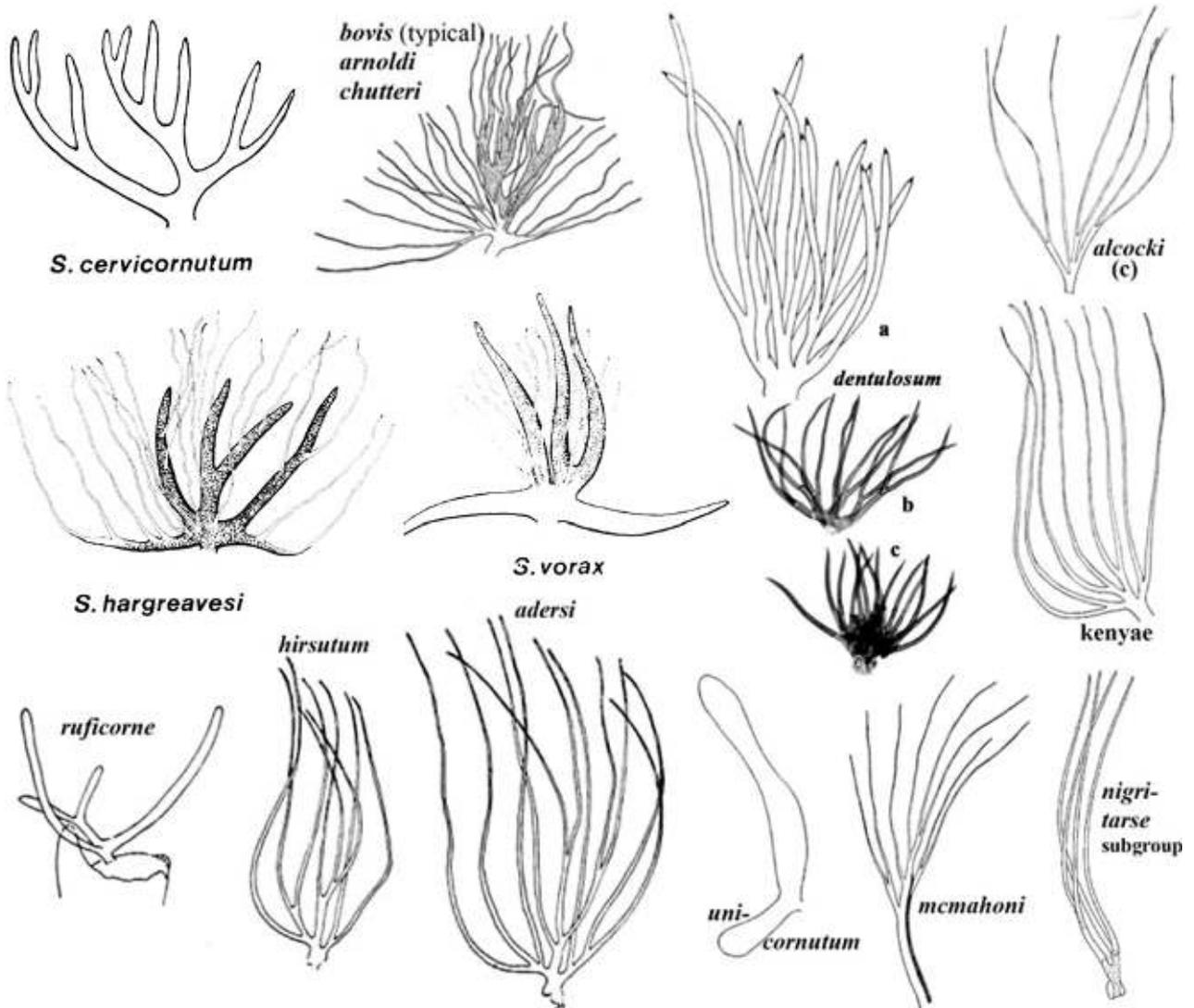
Tableau 4.2. Principaux caractères biologiques et répartition géographique des nymphes d'espèces africaines de *Simulium* qui sont vectrices d'*O. volvulus*.

Nombre et ordre des filaments respiratoires	11 : 1 paire de bras basaux larges à paroi mince ; série secondaire de six filaments verticaux (trois filaments externes en forme de banane ; trois filaments internes portant chacun une branche tertiaire)	Huit filaments longs et fins	25 à 40 : en groupes de quatre ou huit filaments, chaque groupe ayant une courte tige commune
Géographie	Afrique subsaharienne	Principalement dans les forêts d'Afrique de l'Est et centrale	Bassin du Congo et Afrique australe
Habitat	Fixés sur des supports végétaux immergés dans le courant	Relation phorétique sur les crabes	Fixés sur des supports végétaux immergés dans le courant

Source : référence 51

La Figure 4.8 montre des exemples de filaments respiratoires nymphaux des espèces communes non vectrices qui figurent dans la clé taxonomique larvaire. L'Annexe 1 offre une clé de détermination pour les nymphes des espèces afro-tropicales de simulies dans les pays d'endémie de l'onchocercose. Des illustrations des branchies nymphales des Simuliidae africaines figurent à l'Annexe 2.

Figure 4.8. Exemples de filaments respiratoires nymphaux d'autres espèces de simulies afro-tropicales communes non vectrices.



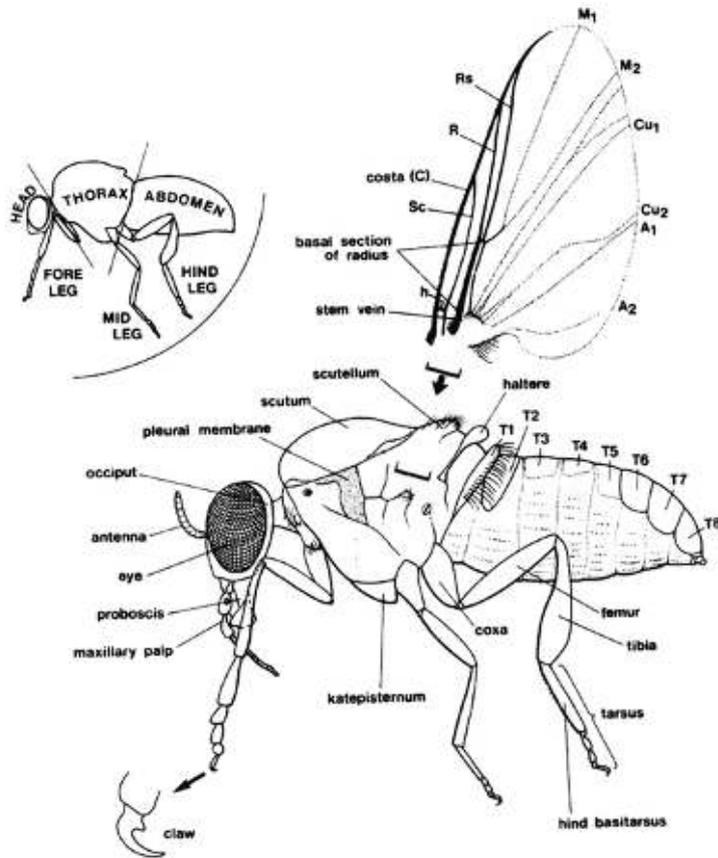
Sources: illustrations redessinées à partir de diverses sources.

4.3.3 Caractères morphologiques utilisés pour identifier les imagos femelles de simulies attirés par les humains en Afrique

a) Caractères morphologiques utilisés pour l'identification des imagos femelles de *Simulium* spp

Les Figures 4.9 à 4.13 illustrent les caractères morphologiques généraux des imagos femelles utilisés pour identifier *Simulium* spp, y compris *S. damnosum* s.l. (50).

Figure 4.9. Caractères morphologiques généraux de l'imago femelle de la simulie.



Les nervures des ailes sont les suivantes: costale (C), sous-costale (Sc), radiale (R), sous-radiale (Rs), médiane antérieure (M₁), médiane postérieure (M₂), cubitale antérieure (Cu₁), cubitale postérieure (Cu₂), anale antérieure (A₁) et anale postérieure (A₂)

Figures 4.10 à 4.13. Les illustrations sont reproduites avec l'autorisation de plusieurs sources, en particulier les références 1, 50, 51 et 53.

Figure 4.10. Vue latérale d'un imago femelle de *S. damnosum* s.l. montrant des tarses antérieurs (FT) fortement élargis, une bande sur le basitarse (BT) des pattes postérieures (BT), des touffes d'écaillés sur les côtés de l'abdomen (SA) et la position de la membrane pleurale (PM) ainsi que la section basale de la nervure R (VR).

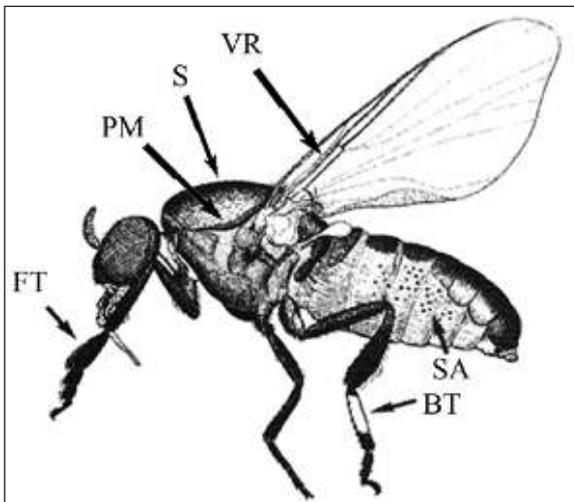


Figure 4.11a. Patte avant de *S. damnosum* s.l. montrant des tarsi antérieurs fortement élargis par comparaison avec trois autres espèces.

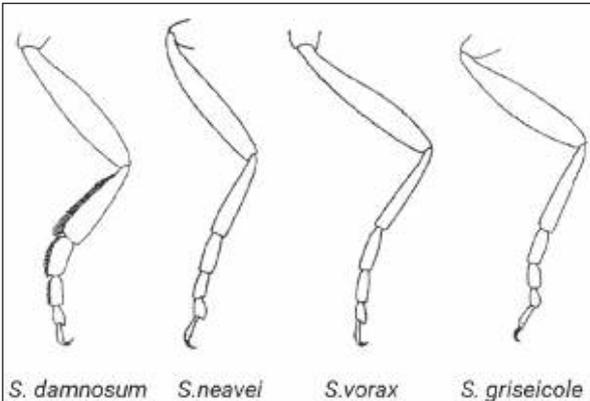


Figure 4.11b. Exemples d'ornementation à trois lignes sur le scutum thoracique (vue dorsale avec extrémité antérieure en haut).

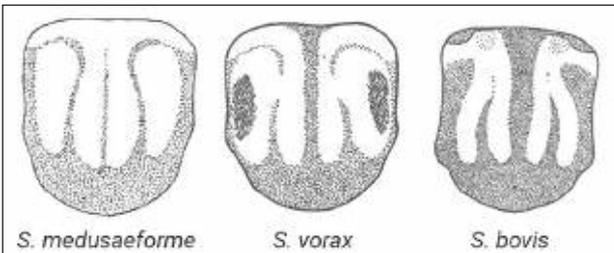


Figure. 4.12. Section basale du Radius (nervure R).

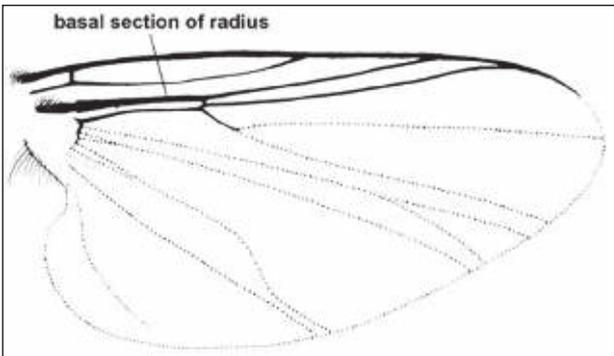
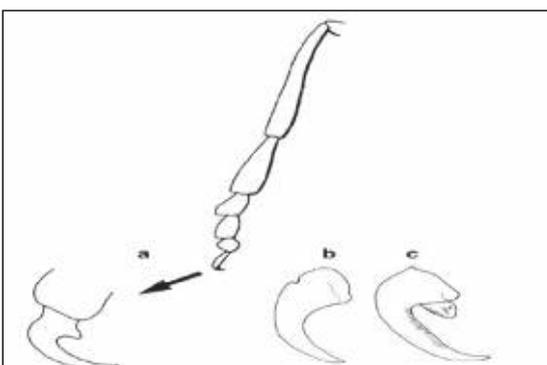


Figure 4.13. Position de la griffe à l'extrémité de la patte (a) et taille de la dent basale. a – Dent basale petite (*S. damnosum* s.l.). b – Dent basale absente (*S. hargreavesi*). c – Grande dent basale (*S. hirsutum*).



b) Espèces de simulies dans les pays africains d'endémie pour l'onchocercose

Étant donné que l'imago femelle représente le stade de vie de la simulie le plus pertinent pour un programme de lutte contre l'onchocercose, l'utilisateur de ce manuel doit d'abord être capable de reconnaître les espèces qui sont des vecteurs connus d'*O. volvulus*, à savoir les membres du complexe *S. damnosum*, le groupe *S. neavei* et *S. albivirgulatum*. Le Tableau 4.3 récapitule les espèces communément attirées par les humains en Afrique, suivi d'une clé de détermination.

Tableau 4.3. Espèces de simulies communément attirées par les humains en Afrique.

Sous-genre	Morpho-espèce	Notes sur l'anthropophilie et la distribution
<i>Edwardsellum</i>	Complexe <i>S. damnosum</i>	Comprend au moins 55 cyto-espèces et cytotypes, dont la plupart ne piquent pas les humains
<i>Lewisellum</i>	Groupe <i>S. neavei</i>	Regroupe trois espèces vectrices, <i>S. neavei</i> (Ouganda, Est de la République Démocratique du Congo), <i>S. woodi</i> (République-Unie de Tanzanie) et <i>S. ethiopiense</i> (Éthiopie)
	<i>S. ovazzae</i>	Savane camerounaise (principalement)
<i>Anasolen</i>	<i>S. dentulosum</i>	Anthropophile en République démocratique du Congo, en Éthiopie et au Rwanda (peut-être un vecteur dans le foyer de Haut-Ituri en République démocratique du Congo)
	<i>S. shoae</i>	Éthiopie
<i>Byssodon</i>	<i>S. griseicollae</i>	Anthropophile mais pique rarement dans le nord du Nigeria, au Soudan du Sud et au Soudan
<i>Meillonellum</i>	<i>S. adersi</i>	Savane du nord de l'Afrique de l'Ouest (principalement)
<i>Metomphalus</i>	<i>S. albivirgulatum</i>	Régulièrement anthropophile uniquement en Zambie et dans le centre de la République démocratique du Congo (où il est vecteur)
	<i>S. bovis</i>	Enregistré comme régulièrement anthropophile uniquement dans le centre du Nigeria, le nord de l'Ouganda et le nord-ouest de l'Éthiopie
	<i>S. chutteri</i>	Anthropophile en Afrique du Sud, mais ne pique pas. Ne se trouve pas dans les pays d'endémie de l'onchocercose.
	<i>S. gibense</i>	Éthiopie
	<i>S. vorax</i>	Association avec le bétail, généralement dans le foyer de Haut-Ituri en République Démocratique du Congo
<i>Phoretomyia</i>	<i>S. wellmanni</i>	Angola
	<i>S. dukei</i>	Forêt du Cameroun

Clé de détermination des femelles de *Simulium* spp communément attirées par les humains en Afrique tropicale

Dans la plupart des cas, il est impossible d'identifier les imagos de certaines espèces sur le terrain, car l'évaluation de certains caractères nécessite l'utilisation d'un microscope de dissection. Pour une clé complète de toutes les espèces africaines, se reporter à Freeman et de Meillon (53).

1. Toutes les pattes ont une cuticule entièrement noire (bien qu'elles puissent présenter quelques écailles argentées ou dorées), à l'exception du basitarse postérieur, qui comporte une large bande blanc-crèmeux très visible. En outre, tarsi antérieurs fortement élargis et aplatis (Fig. 4.10), et écailles abdominales latérales argentées en touffes : ***S. damnosum* s.l.**

Pattes pas comme précédemment (à l'exception du sous-genre *Phoretomyia*, qui peut avoir des tarsi antérieurs élargis) et écailles abdominales pas en touffes. Aller à **2**.

2. Scutum thoracique comportant trois lignes longitudinales sombres sur la cuticule (qui peuvent être masquées par des écailles chez certains jeunes spécimens et sont plus visibles sous différentes directions d'éclairage en faisant tourner le spécimen) (Fig. 4.11B). Aller à **3**.

Cuticule du scutum sans ornementation à trois lignes (habituellement dépourvue d'ornementation évidente, bien qu'il puisse y avoir des écailles ou des soies colorées). Aller à **8**.

3. Aile avec section basale de la nervure R pourvue de soies fines sur toute sa longueur (voir Fig. 4.12) et griffes sans dent basale (Fig. 4.13A). Aller à **4**.

Section basale de la nervure R de l'aile glabre et griffes avec dent basale (Fig. 4.13C) : **S. griseicolle**

4. Membrane pleurale pourvue de soies (souvent un petit groupe dans le coin dorsal antérieur, qui peuvent être éliminées du doigt chez les spécimens plus âgés) (voir Fig. 4.9). Aller à **5**.

Membrane pleurale dépourvue de soies. Aller à **6**.

5. Scutum de couleur grise avec une ornementation noire en forme de lyre à trois lignes étroites (voir Fig. 4.11A). Trouvé principalement dans le bassin du Congo : **S. albivirgatum**

Scutum de couleur grise avec une ornementation noire à trois lignes larges (voir Fig. 4.11C). Présent en Éthiopie : **S. gibense**

6. Antennes et pattes entièrement noires : **S. wellmanni**

Base des antennes gris-noir et pattes pas entièrement noires. Aller à **7**.

7. Ornementation à trois lignes sur le scutum avec des taches ovales brunâtres latérales par rapport aux rayures noires externes (Fig. 4.11B), espèce de grande taille (longueur des ailes > 2,5 mm : **S. vorax**

Habituellement sans taches ovales brunâtres latérales (Fig. 4.11C), espèce de petite taille (longueur des ailes < 2,5 mm) : **S. bovis**

8. Membrane pleurale pourvue de soies (peut-être un petit groupe dans le coin dorsal antérieur, qui peuvent être éliminées du doigt chez les spécimens plus âgés) (voir Fig. 4.9). Aller à **9**.

Membrane pleurale dépourvue de soies. Aller à **10**.

9. Griffes avec une grande dent basale (Fig. 4.13C) : **S. adersi**

Griffes avec une dent basale petite ou minuscule (Fig. 4.13B) : **S. dentulosum** (et **S. Shoa** en Éthiopie)

10. Abdomen pourvu de soies pour la plupart noires, jaunes seulement à la base et/ou sur les parties médio-latérales. Pattes entièrement noires. Aller à **11**.

Abdomen pourvu de soies pour la plupart jaunes argentées ou dorées (parfois cuivrées ou bronze sur les segments médians). Pattes noires ou brun foncé avec les parties basales du basitarse postérieur ternes ou jaune rougeâtre (et quelques autres parties parfois légèrement plus claires). Aller à **12**.

11. Espèce de couleur très foncée pourvue de soies noires ou bronze-noires sur le frontoclypeus, le scutellum et la partie postérieure du scutum. Abdomen pourvu de soies jaunes uniquement sur les deux premiers segments : **S. dukei**

Espèce plus pâle pourvue de soies jaunes argentées à dorées sur le frontoclypeus, la majorité du scutellum et l'intégralité du scutum. Abdomen pourvu de soies jaunes sur les deux premiers segments et la partie médio-latérale (côtés des segments 3 à 6) : **S. ovazzae**

12. Soies abdominales uniformément jaune argentées ou dorées. Aller à **13**.

Soies abdominales pas uniformément jaune argentées ou dorées, segments médians plus foncés cuivrés ou bronze : **S. woodi**

13. Pattes noires, à l'exception des bases jaunes ternes indistinctes des basitarses postérieurs (et ceux-ci ne présentent pas de bande pâle définie) : **S. neavei**

Pattes pas uniformément noires ; partie médiane de chaque tibia et « genoux » fémoraux/tibiaux postérieurs de couleur orange rougeâtre ou brunâtre ; basitarses postérieurs distinctement jaunes rougeâtres sur les deux tiers basaux environ (et avec des bandes claires assez définies) :

S. ethiopiense

Source : mis à jour en partie de la référence 1

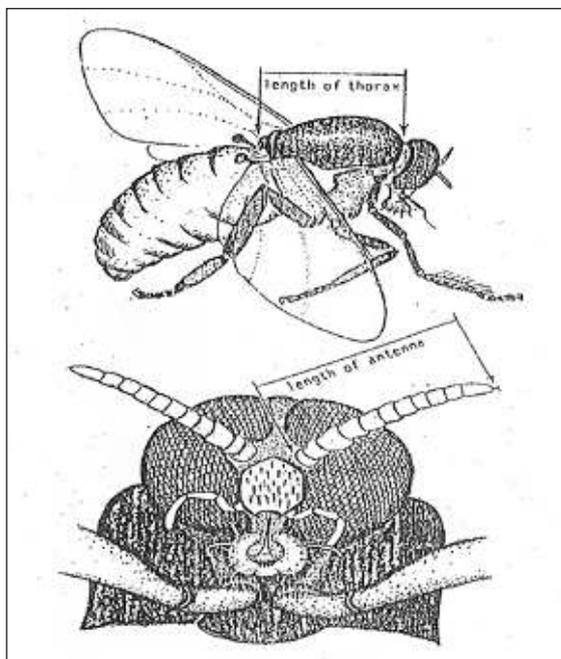
c) Identification des différentes cyto-espèces d'imagos femelles de *S. damnosum s.l.*

Lorsque *S. damnosum s.l.* a été identifié en utilisant la clé ci-dessus, les cyto-espèces communes de *S. damnosum* peuvent être identifiées en évaluant :

- le rapport entre la longueur du thorax et celle des antennes ainsi que d'autres caractères morphologiques des antennes ;
- la couleur des touffes alaires (ainsi que des soies et coxae postcrâniens) ; et
- la morphologie des pattes antérieures.

i) *Utilisation des caractères des antennes en Afrique de l'Ouest* : Les caractères des antennes (comme la couleur des articles, la longueur par rapport à la longueur du thorax ; voir Fig. 4.14) et la compression des articles d'antenne varient selon les sous-complexes de cyto-espèces d'Afrique de l'Ouest (Tableau 4.4).

Figure 4.14. Méthode pratique pour mesurer la longueur du thorax et des antennes de *S. damnosum s.l.*



Source : référence 54

Tableau 4.4. Caractères des antennes pour identifier l'imago du complexe *S. damnosum* en Afrique de l'Ouest.

Caractère	<i>S. damnosum/sirbanum</i>	<i>S. squamosum/yahense</i>	<i>S. soubrense/sanctipauli</i>
Compression des articles d'antenne	 <p>Articles 4 et 5 toujours comprimés, souvent avec d'autres articles</p>	 <p>Article 4 (et 5) nettement comprimé</p>	 <p>Très rarement comprimés</p>
Couleur des antennes	Les quatre premiers articles sont habituellement pâles	Deux ou trois premiers articles pâles	Tous les articles sont sombres
Rapport antenne/thorax	2,1 à 2,4 (médiane de 2,3)	2,04 à 2,2 (médiane de 2,15)	1,8 à 2,04 (médiane de 1,96)

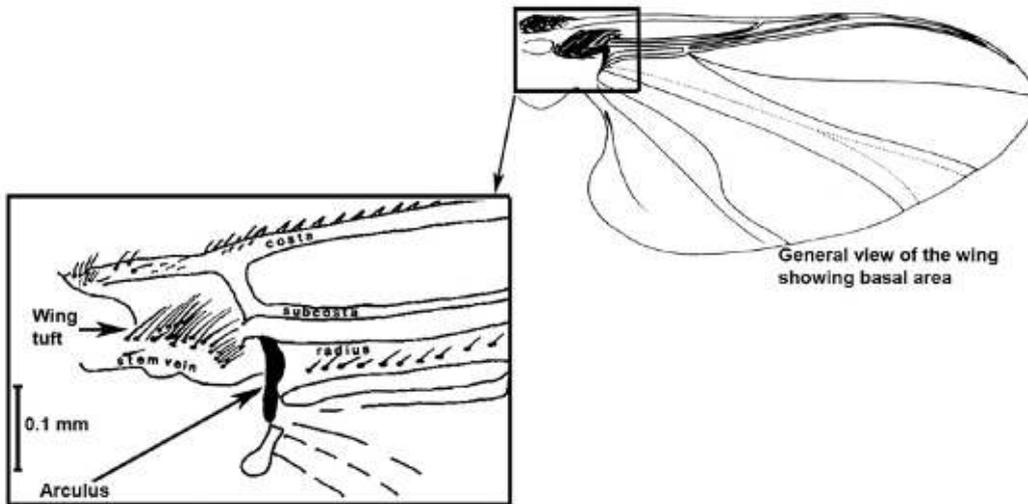
Source : référence 54

Un micromètre oculaire doit être utilisé pour mesurer les longueurs des antennes et du thorax sous stéréomicroscopie conventionnelle.

ii) *Identification morphologique des femelles de S. damnosum s.l. uniquement par des caractères de couleur* : L'OCP a développé un système simplifié pour l'identification des cyto-espèces d'imago femelle de *S. damnosum s.l.* en Afrique de l'Ouest, qui est encore utile aujourd'hui. Le système est basé sur les couleurs de différentes structures externes et évite d'avoir à prendre des mesures difficiles (comme le rapport antenne/thorax décrit dans cette section) et à évaluer subjectivement la forme des articles d'antenne. Bien qu'elles soient limitées aux régions couvertes par l'ancien OCP, qui sont désormais en partie obsolètes, les clés illustrées fournies par Dang et Peterson (55) sont utiles pour la manipulation des spécimens. L'identification morphologique nécessite l'examen de spécimens secs au stéréomicroscope (microdissection) avec un grossissement d'au moins 40x, pour évaluer la couleur des éléments suivants :

- les soies de la touffe alaire (voir Fig. 4.15) ;
- les antennes ;
- le premier article de la patte antérieure (procoxa) ;
- l'arculus (près de la base de l'aile ; voir les figures ci-dessous) ;
- les soies du scutellum ; et
- le 9^{ème} tergite abdominal.

Figure 4.15. Position des touffes alaires et de l'arculus chez l'imago de *S. damnosum* s.l.



Source: reference 54

Chaque soie de la touffe est classée comme étant de couleur pâle ou foncée, et la touffe est ensuite classée comme suit : 01 : toutes les soies sont pâles ; 02 : 5 soies ou moins sont foncées ; 03 : les soies sont mixtes ; 04 : 5 soies ou moins sont pâles ; 05 : toutes les soies sont foncées. L'arculus est la structure sombre représentée juste en aval de la nervure de la tige (c.-à-d. à droite de la touffe alaire dans le schéma).

Les principaux critères d'identification sont les suivants.

Groupe de savane (*S. damnosum* s.s., *S. sirbanum*) :

- procoxa plus claire que le thorax ;
- antenne pâle ;
- touffes alaires pâles (catégories 01 et 02) ;
- arculus pâle ;
- soies du scutellum pâles ; et
- soies du 9^{ème} tergite abdominal pâles.

Groupe de forêt I (*S. yahense*) :

- procoxa aussi foncée que le thorax ;
- antenne sombre mais 1^{er} article généralement pâle ;
- touffes alaires sombres (catégories 04 et 05) ;
- arculus sombre ;
- soies du scutellum foncées ; et
- soies du 9^{ème} tergite abdominal foncées.

Groupe de forêt II (*S. squamosum*, *S. sanctipauli*, *S. soubrense*) :

- procoxa aussi foncée que le thorax ;
- antenne sombre mais articles 1 à 9 généralement pâles ;
- touffes alaires sombres (catégories 04 et 05), mais parfois pâles ou mixtes (catégories 01 à 05) chez *S. squamosum* ;
- arculus brun ;
- soies du scutellum mixtes ou pâles ; et
- soies du 9^{ème} tergite abdominal mixtes ou pâles.

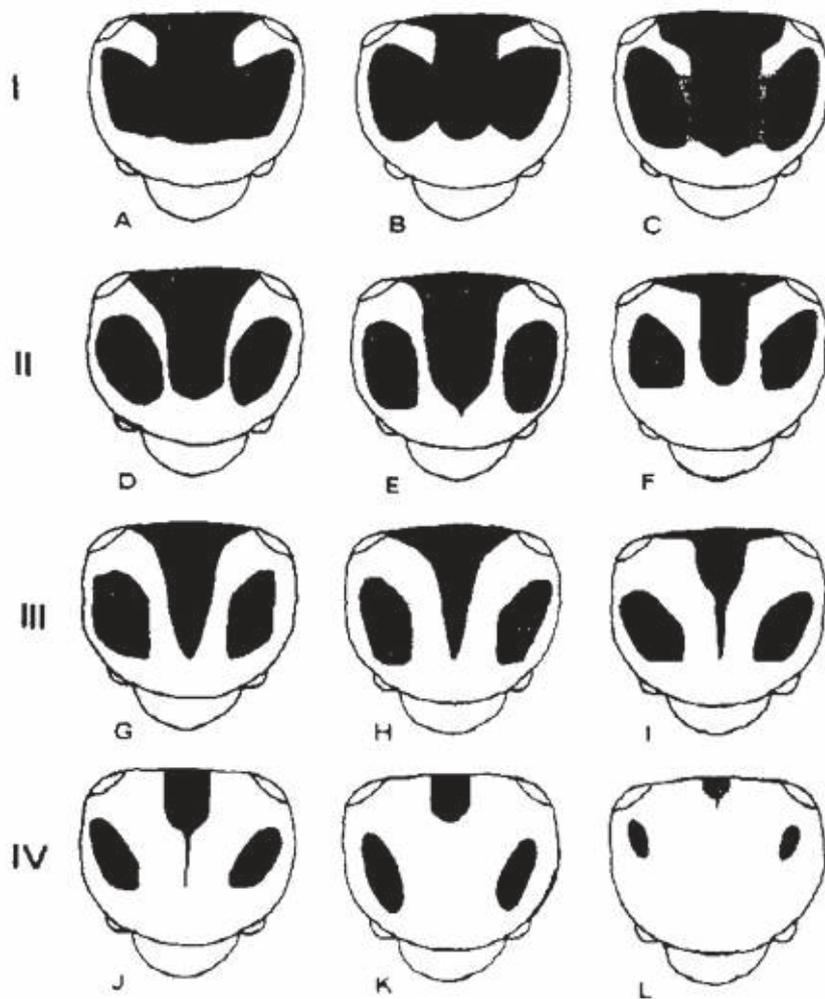
La morphométrie permet d'apporter parfois des précisions afin d'identifier les spécimens en cyto-espèces (voir 56).

- Dans le sous complexe *S. damnosum*, *S. damnosum* s.s. et *S. sirbanum* peuvent être différenciés l'un de l'autre dans 80 à 90 % des cas en mesurant le thorax, l'antenne, le basitarse et le fémur.
- Dans le groupe de forêt, *S. squamosum* s.s. peut être différencié des espèces du sous complexe *S. sanctipauli* dans 96 à 100 % des cas en mesurant l'antenne et le tibia.
- Dans le sous-complexe *sanctipauli*, *S. sanctipauli* peut être différencié des autres formes du complexe dans 85 à 90 % des cas en comparant les mesures du fémur, du tibia, du basitarse, de l'antenne et du thorax.

iii) *S. damnosum* s.l. en Afrique de l'Est : Les femelles de la plupart des cyto-espèces d'Afrique de l'Est ont des touffes alaires pâles (catégories 01 à 02), à l'exception de quelques cyto-espèces qui ont des touffes sombres, mixtes ou variables (57).

iv) *Ornementation mésonotale des mâles de S. damnosum* s.l. : Dans certaines circonstances, ce caractère s'est avéré utile pour caractériser et différencier certaines cyto-espèces. Les mâles élevés à partir de nymphes en Afrique de l'Ouest et de l'Est peuvent parfois être identifiés en utilisant simultanément l'ornementation mésonotale (Fig. 4.16) et la couleur des touffes alaires (57, 58). Même s'il est en général inutile d'essayer d'identifier les mâles, cela peut aider à déterminer le cytotype des espèces se reproduisant dans un lieu particulier si l'identification cytotaxonomique des larves s'avère impossible.

Figure 4.16. Exemples d'ornementation mésonotale chez le mâle de *S. damnosum s.l.*, divisés en quatre grands types, chacun avec trois variantes représentatives.



Source: référence 58

Chapitre 5.

Sélection des sites d'étude et mobilisation communautaire pour l'évaluation entomologique

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 5

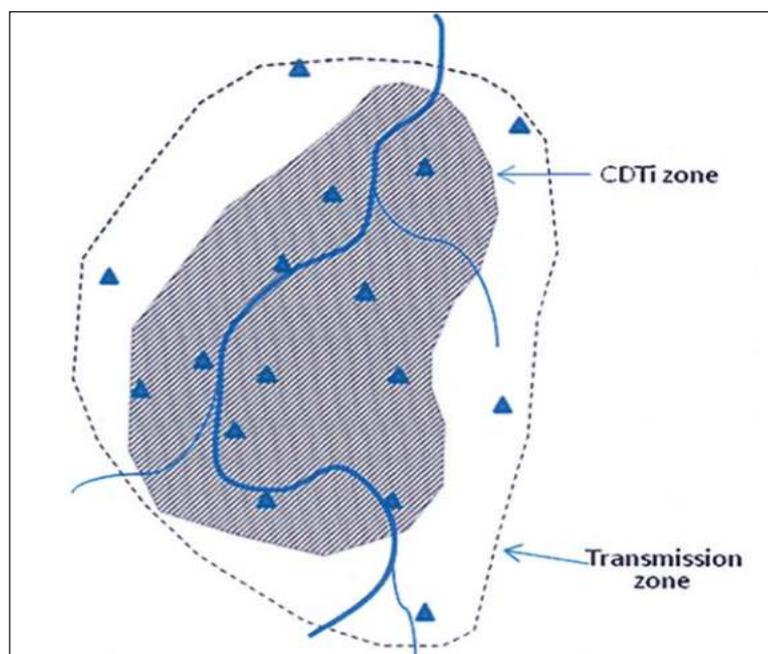
À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- examiner les résultats des évaluations entomologiques antérieures ;
- déterminer la composition de l'équipe pour la sélection des sites entomologiques ;
- sélectionner correctement les sites d'évaluation entomologique ;
- connaître les aspects critiques pour encourager la mobilisation communautaire ; et
- apprécier les distributeurs communautaires (DC) en tant que résultante de la mobilisation.

5.1 Introduction

Afin de déterminer où la transmission d'*O. volvulus* a été interrompue ou éliminée, l'APOC a introduit le concept de zone de transmission : celle-ci est définie comme une « zone géographique dans laquelle la transmission d'*Onchocerca volvulus* se fait par des vecteurs se reproduisant localement, qui peut être considérée comme une unité écologique et épidémiologique naturelle d'intervention ». Selon l'APOC, le cœur d'une zone de transmission typique (Fig. 5.1) est une rivière qui présente des gîtes larvaires de simulies vectrices, des communautés d'endémie situées à proximité de la rivière et des taux d'infection qui diminuent avec la distance par rapport aux gîtes jusqu'à ce qu'ils deviennent négligeables ou chevauchent ceux d'une autre zone de transmission.

Figure 5.1. Schéma d'une zone de transmission de l'onchocercose.

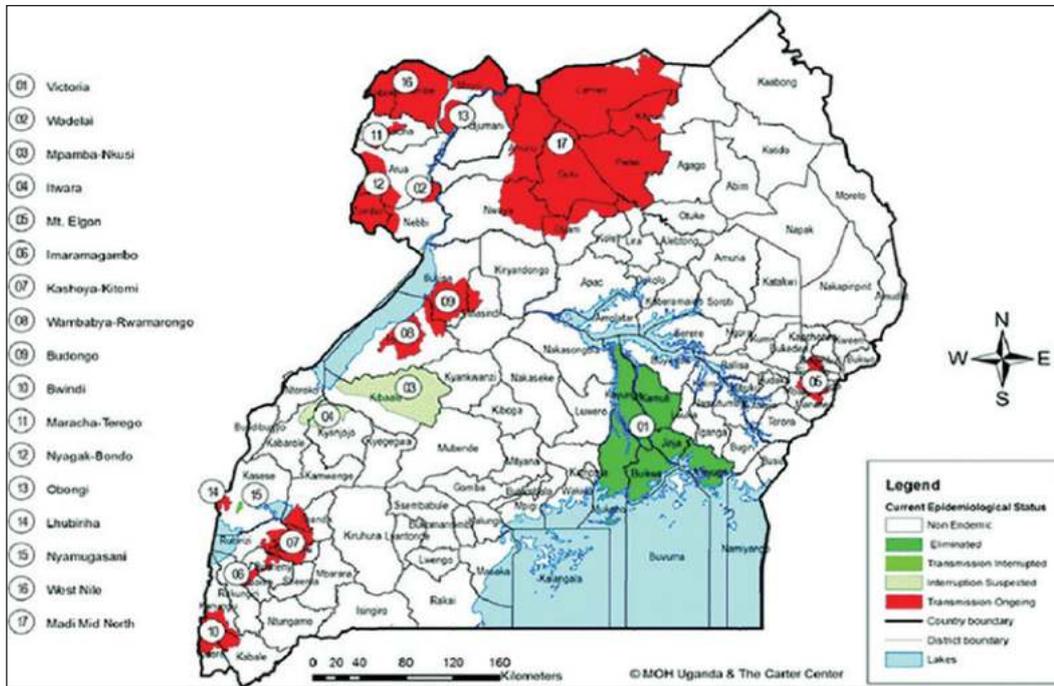


Source : référence 33

Remarque : Durant l'ère de lutte par le biais de campagnes d'AMM avec l'ivermectine, la zone de traitement (zone TIDC) ne couvrait pas toujours la totalité de la zone de transmission. À l'ère de l'élimination, en raison de la capacité de vol souvent extrême des simulies vectrices, l'objectif est désormais de traiter toutes les personnes se trouvant dans la zone de transmission. Les triangles bleus représentent les villages.

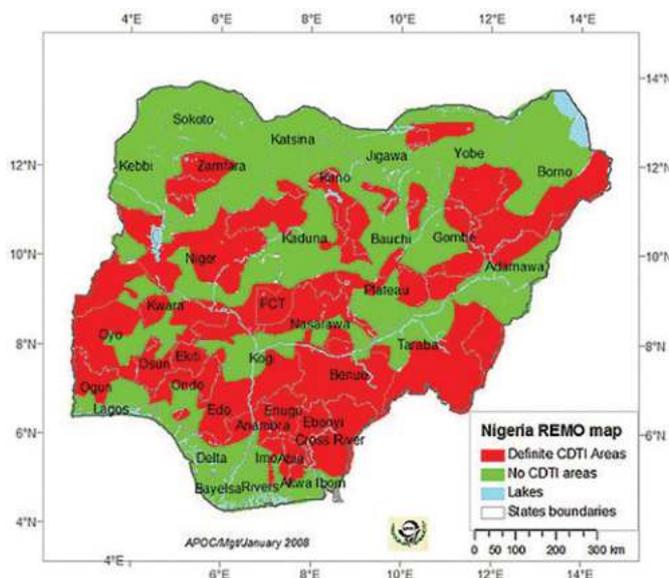
Dans certains pays, comme l'Ouganda (Fig. 5.2), l'onchocercose est clairement répartie selon des zones de transmission distinctes et discontinues, avec des lacunes où la transmission du parasite est absente (zones tampons).

Figure 5.2. Carte de l'Ouganda montrant la répartition bien définie des zones de transmission discontinues de l'onchocercose, et les écarts entre ces zones où la transmission d'*O. volvulus* est absente (zones tampons).



Dans d'autres pays, comme le Nigéria (Fig. 5.3), l'onchocercose est répandue de manière continue sur de vastes zones en raison de la présence fréquente d'habitats larvaires contigus. Dans ces cas, la nette séparation des zones de transmission est difficile, et les bassins fluviaux qui représentent des frontières politiques peuvent être utilisés comme substituts aux zones de transmission. La transmission est considérée comme étant répandue plutôt que limitée par les conditions écologiques locales. Lorsque les frontières politiques sont utilisées pour définir l'aire d'une zone de transmission, le programme doit tenir compte de la possibilité de transmission du parasite due aux mouvements transfrontaliers des vecteurs. Par conséquent, lors de la définition d'une zone de transmission dans un pays d'endémie, il faut tenir compte de la mesure dans laquelle les parasites se déplacent d'une zone à une autre par l'intermédiaire de vecteurs migrateurs et de sujets humains infectés.

Figure 5.3. Carte du Nigéria montrant la répartition continue de l'onchocercose (en rouge) sur de très vastes zones.



TIDC: traitement à l'ivermectine sous directives communautaires

L'intensité et la répartition de la transmission d'*O. volvulus* dépendent de l'écologie de la zone de transmission (p. ex., la localisation des gîtes larvaires, les contacts entre les gîtes et les populations humaines) et du comportement de la simulie vectrice. Les évaluations entomologiques doivent donc être menées à proximité des gîtes larvaires et non à des sites aléatoires dans toute la zone de transmission. La plupart des gîtes larvaires se trouvent à proximité de rapides ou de rivières aux cours d'eaux rapides (Chapitre 3), bien qu'il existe des exceptions comme indiqué dans les chapitres précédents.

Cette approche de l'évaluation repose sur le fait que les simulies vectrices ont des exigences très spécifiques en matière de gîte larvaire et que les simulies plus âgées, qui sont les principaux transmetteurs du parasite, ont une portée de vol plus limitée. L'utilisation de cartes topographiques détaillées aidera l'équipe à sélectionner les sites de capture et les villages les plus susceptibles d'être gravement touchés par l'onchocercose.

5.2 Critères de sélection des sites pour l'évaluation entomologique

La sélection des sites entomologiques comprend :

- l'identification des systèmes fluviaux ;
- la délimitation des zones de transport le long du système fluvial d'intérêt ; et
- l'exclusion des zones vides et inadaptées.

Les zones inadaptées comprennent celles qui sont susceptibles d'être exemptes d'onchocercose en raison de l'absence de populations humaines résidentes ou de rivières, ou parce qu'elles ne sont pas adaptées à la reproduction des simulies vectrices. Ces zones peuvent inclure les déserts, les deltas de rivières (en raison de la lenteur du courant), les parcs nationaux et les réserves de chasse, ainsi que les zones densément boisées dépourvues d'habitations humaines.

5.3 Composition de l'équipe

Lors de la planification préalable à la sélection des sites, il faut engager deux à quatre personnes ayant autant de connaissances pertinentes que possible. Dans l'idéal, une équipe de sélection des sites doit comprendre :

- un entomologiste ayant de nombreuses années d'expérience des espèces vectrices de *Simulium* sur le terrain ;
- un épidémiologiste ayant une bonne compréhension de la dynamique de transmission d'*O. volvulus* ;
- un géographe ayant une connaissance approfondie des caractéristiques physiques de la zone d'étude ; et
- un assistant de terrain local (guide).

Si de tels spécialistes ne sont pas facilement accessibles par le programme, les coordinateurs doivent chercher au-delà du ministère de la santé et s'adresser aux entomologistes universitaires locaux ainsi qu'aux biologistes qualifiés des programmes d'autres pays.

Pour cela, l'équipe de sélection doit s'appuyer sur un atlas régional fournissant des informations sur l'hydrologie, la géologie, le climat, la végétation et la démographie, ainsi que des cartes topographiques conventionnelles.

5.4 Sélection des sites pour l'évaluation entomologique

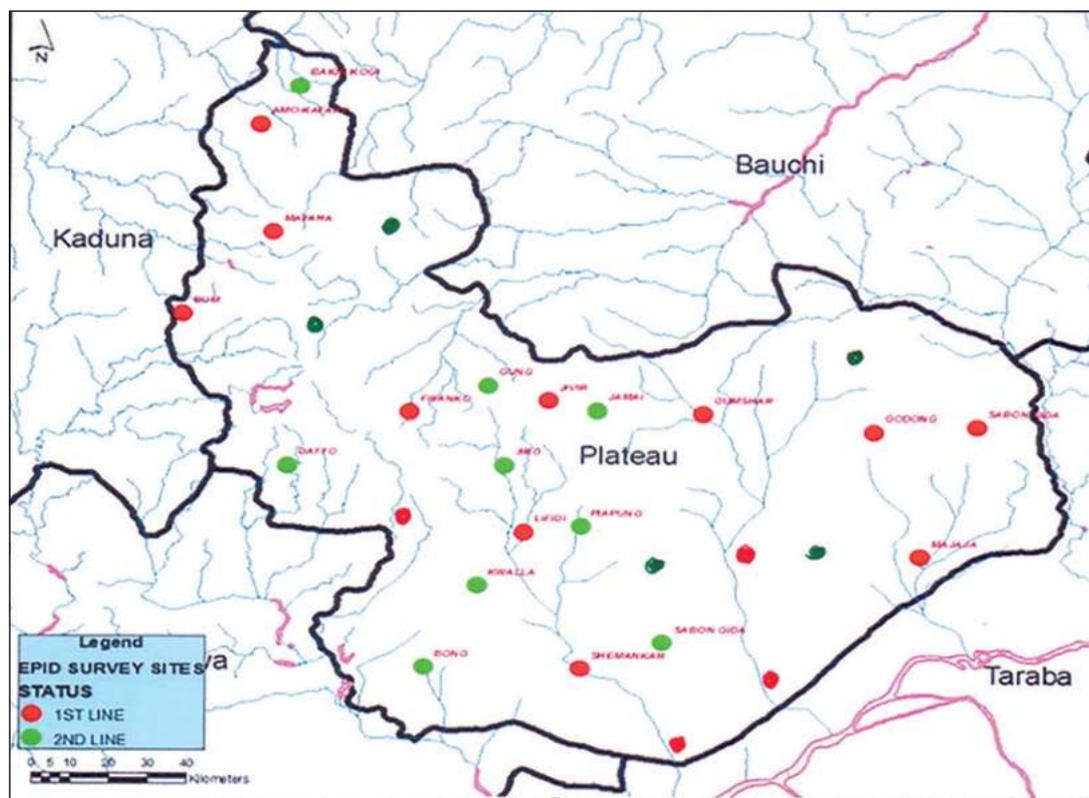
L'équipe de sélection des sites entomologiques doit utiliser les meilleures cartes topographiques disponibles fournissant une représentation précise des rivières, du relief de la région et des noms des villages et des communautés. À cet effet, les cartes topographiques à l'échelle 1/200 000 sont probablement à privilégier ; elles sont disponibles dans la plupart des pays d'Afrique francophone. Dans les pays d'Afrique anglophone, on trouve habituellement des cartes topographiques à l'échelle 1/250 000 ou 1/50 000 offrant les informations nécessaires. N'importe quelle carte topographique contenant les informations nécessaires peut être utilisée. La Figure 5.4 montre les détails visibles sur une carte altimétrique dotée de courbes de niveau. Plus les lignes sont proches, plus le paysage est escarpé. Noter les caractéristiques générales (pente douce ou prononcée, vallée, colline, crête) mises en évidence par la variation des contours.

Figure 5.4. Carte à l'échelle 1/50 000. L'intervalle entre les courbes est de 20 m.



Source: Australian Intergovernmental Committee on Surveying and Mapping

Figure 5.5. Exemple de sites entomologiques sélectionnés d'un système fluvial dans l'État de Plateau au Nigéria.



La Figure 5.5 montre les sites d'étude sélectionnés d'un système fluvial au Nigéria. Un village de première ligne ne présente aucune agglomération entre son emplacement et le gîte larvaire de vecteurs le plus proche, et l'onchocercose y est méso-endémique ou hyperendémique. Les villages de deuxième ligne sont situés à au moins 10 km de plus du gîte larvaire principal.

Comme indiqué précédemment, un travail préliminaire est nécessaire pour assurer une bonne sélection de sites, comprenant :

- la recherche des travaux publiés sur la prévalence et d'autres aspects épidémiologiques de l'onchocercose dans la région ;
- la recherche des rivières connues dans la région, des gîtes larvaires historiques et des sites de capture antérieurs ; et
- la collecte d'autres données importantes sur les aspects épidémiologiques et entomologiques de la maladie dans la zone, telles que les TAP et les indices de transmission.

En pratique, pour sélectionner les villages et les communautés, l'équipe doit d'abord identifier un village de première ligne, c'est-à-dire n'ayant aucune autre agglomération interposée entre son emplacement et le plus proche gîte larvaire de simules vectrices (≤ 10 km). Ensuite, un village de deuxième ligne doit être identifié dans un rayon de 15 à 20 km à droite et à gauche du premier site aux fins d'une évaluation entomologique plus approfondie (portant à la fois sur le fleuve principal et sur ses affluents). Il ne faut pas oublier en effectuant ces sélections que les simules vectrices d'*O. volvulus* se reproduisent principalement dans les rivières et les cours d'eau à courant rapide bien aérés. Ce facteur important limite la population de vecteurs aux villages proches des berges des rivières. Dans le cadre de l'élimination de l'onchocercose, la sélection des sites de capture pour la xénosurveillance des simules afin de déterminer les paramètres appropriés pour l'élimination doit être influencée par l'emplacement des communautés de première ligne.

Les critères importants pour sélectionner les communautés de première ligne (à haut risque) sont donc les suivants :

- La communauté de première ligne doit être située à proximité de gîtes larvaires connus (< 10 km).
- Aucun établissement humain ne doit être présent entre la communauté de première ligne et le gîte larvaire riverain.
- La priorité doit être accordée aux gîtes larvaires productifs de grande taille, qui sont souvent proches des rapides (indiqués sur les cartes topographiques).
- Sur le fleuve principal, au moins un point de capture ou un gîte larvaire doit être sélectionné tous les 20 à 30 km pour surveiller la transmission, conformément aux directives épidémiologiques ; des points de capture supplémentaires peuvent être nécessaires, selon la répartition des communautés et la longueur de la rivière.
- Pour surveiller la transmission, il faut aussi choisir des gîtes larvaires sur les affluents du fleuve principal, à proximité des communautés de première ligne.

La saisonnalité est une considération majeure pour comprendre la dynamique de transmission d'*O. volvulus* en raison des variations de la productivité des gîtes larvaires (Chapitre 3). Pour planifier les activités de collecte, il est essentiel de savoir quand les populations de simulies vectrices commencent à augmenter et atteignent leur nombre maximal en fonction des pluies et de la température. La transmission pouvant être saisonnière, l'identification des sites à évaluer peut exiger des visites tout au long de l'année jusqu'à ce que l'impact total de la saisonnalité soit déterminé. Lorsqu'il s'agit d'une zone dans laquelle l'équipe s'attend à trouver un gîte larvaire et où l'on sait que l'onchocercose est présente, il est nécessaire d'effectuer des visites répétées, qui peuvent être guidées par les connaissances locales quant aux périodes propices aux piqûres de simulies.

En Afrique de l'Est, la sélection des sites pour l'évaluation entomologique du vecteur *S. neavei* est différente de celle des sites pour l'évaluation de *S. damnosum s.l.*, car *S. neavei* ne parcourt pas de longues distances à la recherche d'un repas de sang. Par exemple, dans une zone de transmission en Ouganda, 84 % des imagos femelles de *S. neavei* ont été collectées à l'orée d'une forêt à proximité de leur gîte larvaire et moins de 1 % ont été collectées à plus d'un kilomètre. La distance maximale parcourue par les simulies à la recherche d'un repas de sang était de 4 km (59). Dans ces zones, les gîtes larvaires devraient donc être identifiés dans des segments plus courts que celui habituellement recommandé, soit un site tous les 20 à 30 km. La rivière doit présenter un courant rapide et offrir un certain degré de couverture forestière, avec de préférence un lit rocheux pour favoriser la survie des crabes phorétiques.

L'emplacement des structures artificielles, comme les barrages et autres structures qui modifient le courant pour favoriser la reproduction des larves, doit également être pris en compte. Certaines informations sont présentées au Chapitre 3 et l'importance de ces structures est examinée plus en détail au Chapitre 6.

La recherche des sites pour l'évaluation entomologique commence au niveau de la partie la plus basse du fleuve principal à courant rapide et se prolonge en amont. À ce stade, l'équipe doit prendre en compte les données épidémiologiques collectées avant la mise en place de mesures de lutte, les cartes topographiques disponibles, l'emplacement des communautés (surtout celles où l'onchocercose est méso ou hyperendémique), les rapides indiqués sur les cartes, les ponts (souvent construits au niveau de sites rocheux) et tout autre site au sein des communautés riveraines pour lequel une activité de piqûre a été signalée.

Dans le cadre d'une évaluation entomologique, le village ou la communauté dans laquelle un gîte larvaire a été choisi pour attraper ou piéger les mouches doit également être évalué sur le plan épidémiologique afin de synchroniser les résultats entomologiques et épidémiologiques. Le programme national doit garantir que toutes les informations sur la transmission et le traitement sont disponibles pour chaque gîte larvaire et le village de première ligne qui y est associé. Cela doit inclure la prévalence de référence dans la communauté avant le traitement, la saisonnalité de la reproduction des simulies, les indices de transmission (lorsqu'ils sont connus), l'historique des campagnes d'AMM (année de début, couverture par année), l'historique des activités de lutte antivectorielle et les résultats de toute enquête épidémiologique ou entomologique antérieure. Ces données doivent être collectées dès que les gîtes larvaires sont identifiés.

5.5 Mobilisation communautaire

5.5.1 Introduction

La mobilisation communautaire est indispensable pour créer des partenariats avec divers secteurs d'une communauté afin de résoudre des problèmes urgents tels qu'une MTN. Elle donne aux membres et aux groupes communautaires les moyens d'agir pour faciliter le changement. Entre autres, les actions mobilisatrices consistent à identifier les ressources, fournir des informations, obtenir un soutien et favoriser la coopération entre les secteurs public et privé de la communauté. La mobilisation est souvent décrite comme la construction de partenariats communautaires ou collaboratifs, l'engagement communautaire ou la création de coalitions.

Dans le cadre des programmes de santé publique, la mobilisation communautaire garantit que la communauté possède les moyens de répondre à ses besoins de santé. Cela permet d'assurer la fourniture de soins de santé primaires, la pérennité et l'intégration conformément aux priorités communautaires, ainsi que de combler le fossé entre la communauté et les services de santé centralisés. L'APOC est un bon exemple de mobilisation communautaire à grande échelle, qui a permis d'établir un réseau de 472 972 distributeurs communautaires (DC) formés ayant les compétences requises pour délivrer des médicaments, éduquer leurs pairs sur les problèmes de santé et participer à d'autres activités de lutte contre les maladies. Les DC étaient sélectionnés par leurs communautés et étaient donc perçus comme honnêtes et dignes de confiance. Étant des travailleurs bénévoles, leur motivation était d'acquérir des connaissances et de contribuer au développement de leur communauté, plutôt que de recevoir une récompense financière.

Le choix des DC n'est pas une activité qui relève de l'entomologie ; cependant, dans certains pays, comme la République-Unie de Tanzanie, les DC (qui ne sont en général pas rémunérés) sont sélectionnés de préférence comme collecteurs de vecteurs (rémunérés) en guise d'incitation. Néanmoins, le système de DC développé par l'APOC a donné lieu à l'engagement communautaire dans le programme de lutte contre l'onchocercose, contribuant tant à son succès qu'à sa durabilité.

5.5.2 Mobilisation communautaire pour l'évaluation entomologique

Bien que l'on ne s'attende pas à ce que les DC participent à l'évaluation entomologique, l'exemple souligne l'importance de la mobilisation communautaire pour le succès des programmes de santé publique. Les agents de terrain sont responsables de mobiliser les communautés d'endémie pour garantir une évaluation entomologique réussie vers l'élimination de l'onchocercose. Dans le cadre de telles activités, les communautés d'endémie ont un rôle important à jouer dans au moins six domaines.

- i) **Identification des gîtes larvaires :** Bien que la première étape pour identifier les gîtes larvaires soit de consulter les cartes, il est possible que des changements aient été apportés aux noms de villages ou de rivières, qu'un détournement ou un embranchement de rivière se soit produit, ou qu'un village ait été déplacé. Parfois, les caractéristiques d'une rivière peuvent avoir changé à tel point que l'écologie locale n'est plus favorable à la reproduction des simulies, ou un changement peut avoir entraîné l'augmentation ou la création de nouveaux gîtes larvaires (p. ex., construction d'un barrage). Les villageois peuvent être d'une aide précieuse pour guider le personnel vers les gîtes larvaires productifs, car ils auront de meilleures connaissances quant à l'emplacement, l'abondance et la saisonnalité des simulies piqueuses.
- ii) **Sécurité des gîtes larvaires :** Certains bassins fluviaux ne sont pas sûrs pour une évaluation entomologique, par exemple si des animaux sauvages dangereux comme des crocodiles ou des hippopotames y habitent (Fig. 5.6), ou si un gîte particulier abrite le sanctuaire des dieux du village auquel l'accès est interdit pour les étrangers ou d'autres groupes. Certaines zones peuvent être peu sûres en raison de conflits entre les villages. Les villageois peuvent informer l'équipe entomologique de telles situations.

Figure 5.6. Crocodile se prélassant à proximité d'un gîte larvaire.



Noter que l'animal est très bien camouflé dans l'arrière-plan.

Source : photographie de D. Boayke

- iii) **Prospection des gîtes larvaires :** Les résidents locaux peuvent informer l'équipe de la profondeur de la rivière à des fins de prospection, aider l'équipe à localiser les stades préimaginaux des simulies ou confirmer l'activité de piqûre des femelles chez l'humain. Les villageois peuvent proposer de participer à un exercice de simulation de capture sur appât humain au début de la prospection (voir ci-dessous).
- iv) **Dégagement et mise sur pied de points de capture :** Les villageois peuvent aider l'équipe à défricher et établir des points de capture.
- v) **Identification des emplacements de pose et de protection des pièges à simulies :** Les villageois peuvent faciliter l'identification des lieux de piégeage des simulies femelles adultes. Lors de certaines expériences sur le terrain, les enfants démontraient les pièges et jouaient avec, ou bien les pièges étaient retirés des sites. Les villageois doivent être habilités afin qu'ils prennent en charge et protègent les pièges.
- vi) **Capture de simulies sur appât humain dans des sites désignés :** Pour la capture sur appât humain des simulies femelles, les villageois peuvent identifier des membres de confiance de la communauté qui seront formés en tant que captureurs villageois (CV). La mobilisation et la participation des dirigeants communautaires sont nécessaires pour identifier les personnes répondant aux critères définis par l'équipe d'entomologie pour le rôle de CV. Le Chapitre 8 donne plus de détails à ce sujet.

Les communautés doivent être mobilisées avant l'exercice d'évaluation. Dans tous les lieux d'évaluation, les dirigeants communautaires doivent être contactés et informés de l'étude ainsi que des objectifs, de l'importance pour la santé et de l'importance de la participation de la communauté. Le cas échéant, les commentaires de la communauté doivent être pris en compte et les protocoles d'étude ou de prospection doivent être modifiés en conséquence.

Les DC sont en général reconnus et respectés par la communauté et doivent participer à la mobilisation communautaire. Cela doit être abordé avec les dirigeants du village au stade de planification de la mobilisation.

Dans les zones naïves au traitement à l'ivermectine, l'équipe doit lancer une nouvelle mobilisation communautaire avec des supports éducatifs appropriés sur l'onchocercose, en mettant l'accent sur les évaluations à entreprendre dans les villages et leur objectif.

Chapitre 6.

Prospection des gîtes larvaires de la simulie

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 6

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- identifier les rivières dotées de rapides et de cascades ;
- comprendre l'utilisation des cartes pour localiser les gîtes larvaires de la simulie ;
- comprendre les méthodes de prospection, y compris la visite des communautés et des rivières et ruisseaux qui abritent les stades préimaginaux de *Simulium* spp ;
- identifier les supports aquatiques potentiels et rechercher les larves et les nymphes de *Simulium* ;
- conserver les larves et les nymphes dans de l'alcool ou une solution de Carnoy ;
- enregistrer les données de prospection à l'aide d'un code d'échantillonnage ;
- remplir des formulaires de terrain standard ; et
- reconnaître les différences majeures entre les gîtes larvaires de *S. damnosum* s.l. et *S. Neavei*.

6.1 Introduction

Le terme « prospection » désigne l'exploration d'un lieu pour y trouver quelque chose (p. ex., de l'or) dont la présence est suspectée. Dans le domaine de l'écologie de *Simulium*, cela se rapporte à la recherche des stades préimaginaux de la similie (œufs, larves, nymphes) dans les gîtes larvaires potentiels. Comme décrit dans le Chapitre 5, on utilise des cartes topographiques pour identifier les gîtes larvaires potentiels le long des réseaux fluviaux. Une fois que l'équipe arrive dans un site potentiel, elle doit physiquement traverser la rivière ou le ruisseau à gué, déterminer où se trouvent les supports (rochers, végétation immergée dans le courant, plantes aquatiques, etc.) dans les zones à courant rapide, puis les examiner pour détecter la présence de larves et de nymphes (Fig. 6.1). L'identification des espèces vectrices permet à l'équipe de confirmer la pertinence du gîte pour la reproduction. Dans le cadre de l'élimination de l'onchocercose, la confirmation d'un gîte larvaire permet d'identifier et de localiser les communautés de première et deuxième lignes dans lesquelles il convient d'entreprendre des évaluations épidémiologiques ou des collectes de similies dans le cadre de la stratégie nationale de surveillance, et afin de répondre aux critères de l'OMS pour l'arrêt de l'AMM ou confirmer l'interruption de la transmission par le biais d'une surveillance post-traitement.

Figure 6.1. Examen de la végétation aquatique pour détecter la présence de larves et de nymphes de similies.



Source : photographie de A. Elaagip

La prospection a un rôle secondaire important si les programmes mettent en œuvre la lutte antivectorielle ou l'élimination comme traitement complémentaire pour réussir à interrompre la transmission d'*O. volvulus*. Pour plus d'informations sur la lutte antivectorielle, se reporter au Chapitre 12.

6.2 Exigences pour la prospection des similies vectrices

En préparation à la prospection des stades préimaginaux, outre les dispositions logistiques, les éléments suivants sont nécessaires :

- une carte du réseau hydrographique montrant les zones d'endémie de l'onchocercose ;
- des listes de gîtes larvaires potentiels à prospector (se reporter à la sélection des sites entomologiques au Chapitre 5) ;

- une glacière ;
- des blocs réfrigérants ;
- un couteau, un sécateur ou des ciseaux de grande taille ;
- une loupe à main ;
- une trousse de dissection avec une pince souple ;
- des sachets en plastique refermables ;
- un cahier étanche ;
- un crayon ;
- un thermomètre ;
- une boîte d'exclusion ;
- du matériel pour l'étiquetage ;
- des flacons de prélèvement universels (et de petite taille) avec réactifs de conservation (alcool à 70 %) (voir Fig. 7.3) ;
- des réactifs pour la préparation de la solution de Carnoy (voir Chapitre 7) ;
- un GPS pour enregistrer les coordonnées de chaque gîte larvaire ;
- des gilets de sauvetage pour les personnes qui doivent entrer dans l'eau ;
- des sangles de maintien pour les personnes qui doivent entrer dans l'eau ;
- des vêtements adaptés à la prospection, notamment des chaussures qui ne glissent pas sur les rochers ;
- des supports artificiels pour larves et les nymphes (bandes de plastique, etc.) ;
- une canne pour se déplacer dans l'eau ; et
- une trousse de premiers secours (en cas de blessure).

Pour la prospection, il est important d'impliquer la communauté en consultant les villageois locaux afin d'identifier plus facilement les gîtes larvaires potentiels et d'obtenir des informations sur les dangers que posent la rivière ou la région. Les habitants locaux sont une importante source d'informations qu'il ne faut pas négliger.

Remarque : La prospection dans les rapides volumineux est **dangereuse** et ne doit pas être entreprise sans une formation appropriée. Les entomologistes ne doivent jamais travailler seuls. Les gilets de sauvetage et les sangles de maintien ne sont pas facultatifs.

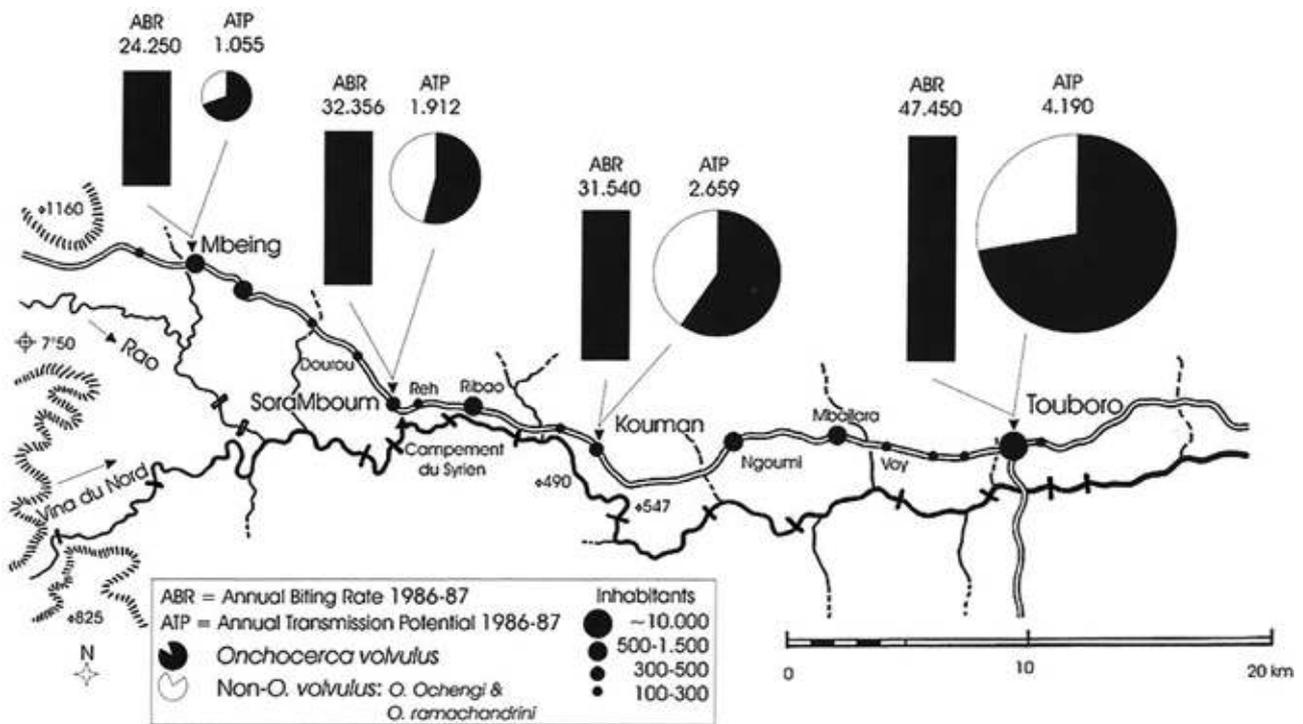
6.3 Cartographie des gîtes larvaires de *Simulium* spp

Toutes les études et interventions épidémiologiques reposent sur des cartes géographiques complètes recensant les gîtes larvaires de *Simulium* spp, l'emplacement des populations humaines et les zones de contact entre les populations humaines et de simulies. Les cartes satellite de Google incluent des images et des cartes aériennes ; par conséquent, l'évolution de l'utilisation du terrain peut être observée en comparant les cartes satellite plus anciennes (d'environ 1980) à celles qui sont plus récentes. Les gîtes larvaires des grands fleuves sont facilement détectés, mais les gîtes plus petits situés le long d'affluents qui coulent uniquement pendant la

saison des pluies et ceux cachés sous la canopée dense de la forêt tropicale manquent de visibilité (Chapitre 3). Bien que ces cartes puissent présenter un intérêt historique, la prospection et l'identification des populations dominantes de *Simulium* spp doivent néanmoins être effectuées sur le terrain.

La localisation des gîtes larvaires n'est qu'un aspect de l'écologie de la transmission d'*O. volvulus*. Les établissements humains sont souvent construits à proximité des rivières qui leur servent de source d'eau, et les routes qui relient les villages peuvent longer ou traverser la rivière. Une cartographie exhaustive des gîtes larvaires de *Simulium* spp doit donc inclure l'emplacement des gîtes, les routes qui sont à proximité et l'emplacement des villages exposés aux simules qui se reproduisent dans ces gîtes. La description d'un gîte larvaire doit inclure son envergure, la saisonnalité du courant, la taille de la population humaine environnante et le taux de contact entre humains et simules (p. ex., taux quotidien ou annuel de piqûres). Ces informations doivent être ajoutées à la carte lors de la prospection sur le terrain. Un système de codage standard est utilisé pour indiquer ces informations sur une carte (Fig. 6.2).

Figure 6.2. A. Carte du foyer classique du type savane d'*O. volvulus* (qui cause la cécité) au nord du Cameroun dans les villages situés aux endroits où la route s'approche de la rivière Vina du Nord, qui étaient des zones d'hyperendémie pour la cécité.



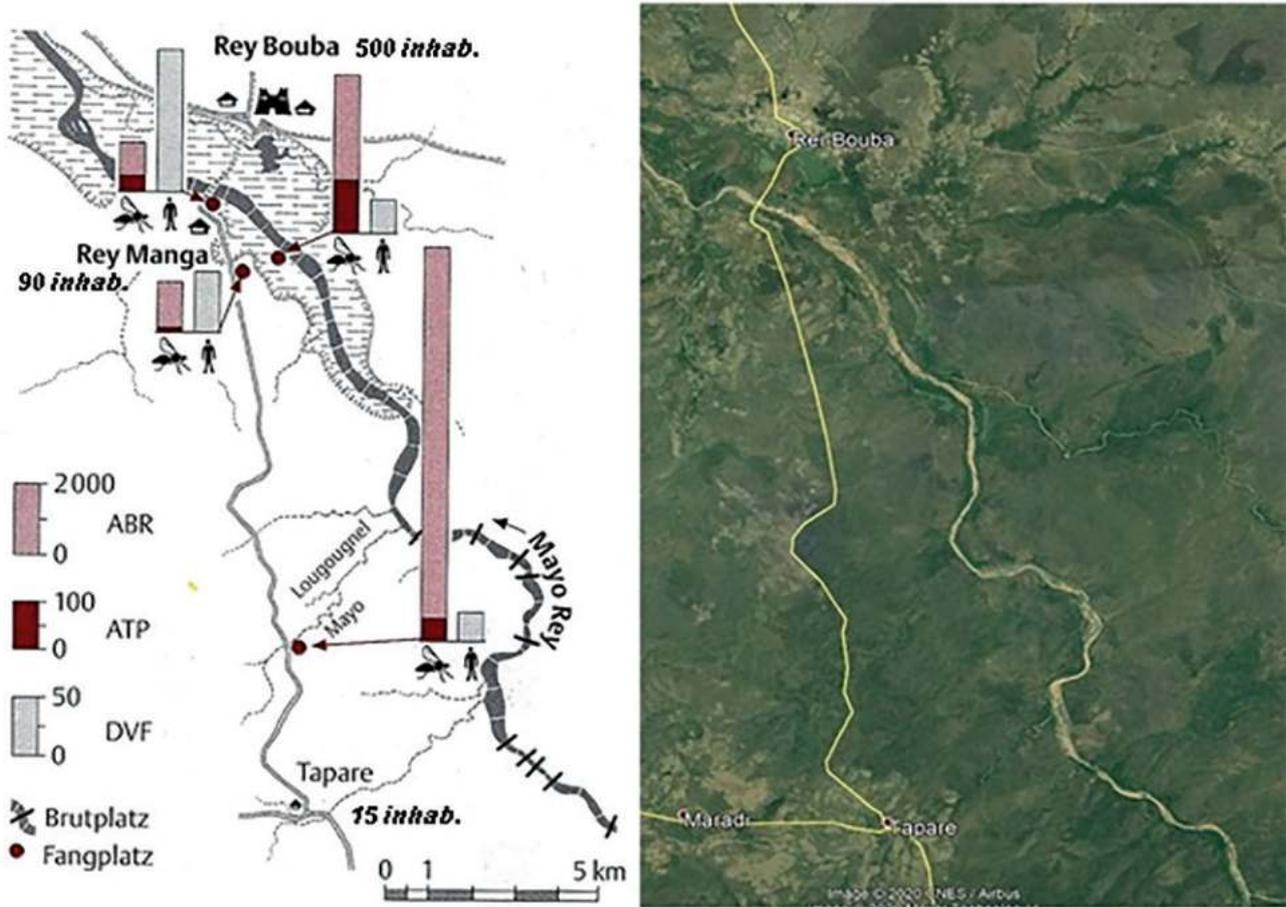
Seidenfaden et al. 2001

Source: référence 60

Légende du code d'échantillonnage: cours d'eau à débit permanent ou saisonnier: les lignes pointillées indiquent les zones où le débit peut être saisonnier, correspondant aux mois sans débit; de longues lignes continues indiquent que l'eau coule la majeure partie de l'année; de courtes lignes continues et de longues lignes pointillées indiquent que l'eau coule pendant quelques mois seulement pendant la saison des pluies. Les gîtes larvaires de *Simulium* spp et leur productivité sont indiqués par des traits perpendiculaires au courant de la rivière (carrés vides pour la saison des pluies uniquement, carrés pleins pour une reproduction quasi pérenne). L'épaisseur du trait indique l'importance du gîte larvaire. Les espèces prévalentes de *Simulium* spp sont ajoutées suite aux prospections.

TAP: taux annuel de piqûres; PAT: potentiel annuel de transmission

Figure 6.2. B. Carte des gîtes larvaires de *S. damnosum* s.l. dans la savane soudanaise du Cameroun.

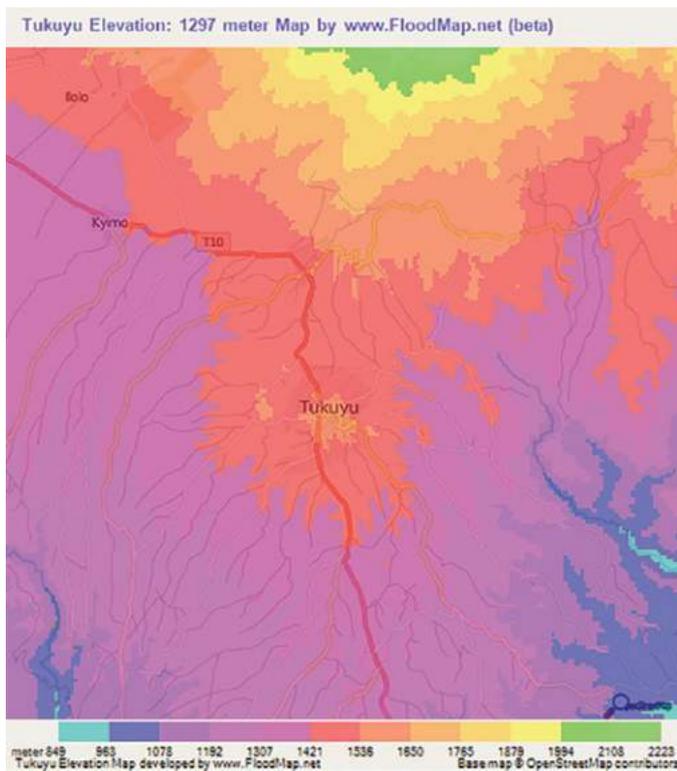


Sources: références 5 et 46

La section 1 illustre les deux principales rivières avec la fréquence quotidienne de visite modifiée (heures de travail passées sur place par personne par jour) à proximité des gîtes larvaires ainsi que le taux annuel de piqûres (TAP) et le potentiel annuel de transmission (PAT) d'*O. volvulus* qui en résultent. La section 2 est une photo satellite des deux rivières (Mayo Rey à droite et Benoué à gauche). Noter les différences du TAP entre les différents emplacements en fonction du temps passé par la population humaine dans un gîte donné.

Les cartes topographiques permettent de localiser les rivières et les ruisseaux en fonction des changements d'altitude. Comme le montrent les Figures 6.3 et 6.4, différentes altitudes peuvent être indiquées par une échelle des gris ou des couleurs, les rivières coulant des altitudes les plus élevées vers les plus basses. Dans d'autres cartes topographiques, les changements tridimensionnels sont représentés par des courbes de niveau qui indiquent la forme et la pente du terrain (voir Fig. 5.4). L'échelle d'une carte en détermine le degré de détail. Par exemple, une échelle 1/24 000 indique que 1 cm sur la carte est égal à 24 000 cm ou 0,24 km au sol.

Figure 6.4. Carte d'élévation à code couleur. Tukuuyu, République-Unie de Tanzanie.



Source: Carte de base © Contributeurs OpenStreetMap

Malgré l'importance des cartes pour la prospection, une enquête de terrain est menée sur place en recherchant des supports de reproduction, en collectant des larves et nymphes de *Simulium* spp et en les identifiant au laboratoire.

6.4 Méthodes de prospection des simulies

Les sites de prospection peuvent être accessibles par route, par bateau ou à pied. Au niveau d'un site donné, les stades aquatiques des simulies peuvent être prospectés par bateau ou en marchant dans les rivières ou les ruisseaux. En se déplaçant dans l'eau, il faut prendre les précautions appropriées comme porter des vêtements adaptés, un gilet de sauvetage et une sangle de maintien, et ne jamais prospecter seul. La prospection consiste à inspecter attentivement les supports (végétaux, roches, brindilles, graminées, piliers de pont, etc.) du gîte afin d'observer et de prélever des spécimens de stades préimaginaux (notamment larves et nymphes) (Fig. 6.5).

Figure 6.5. Larves de simulies sur des tiges sous l'eau.



Source: photographie de R. Post

Les deux stades aquatiques peuvent être collectés à l'aide d'une pince. Les coordonnées GPS doivent être consignées pour tous les gîtes larvaires inspectés, en enregistrant tous les chiffres indiqués sur l'appareil pour chaque coordonnée. Après la collecte, les larves et les nymphes doivent être conservées dans une glacière avec des blocs réfrigérants ou fixées dans de l'alcool à 70-80 % en vue d'être triées et identifiées au laboratoire. Les échantillons peuvent également être placés dans une solution de Carnoy (fixateur) pour les études cytotoxonomiques (Chapitre 7). Les larves et les nymphes peuvent être identifiées à la loupe sur le terrain ou au microscope optique (microdissection) au laboratoire, en utilisant les clés de détermination appropriées (se reporter au Chapitre 4).

Après la collecte, le matériel peut être classé en quatre catégories à inscrire sur la fiche de prospection : jeunes larves, larves âgées, nymphes et cocons vides. Les densités des stades préimaginaux sont alors codées de la façon suivante :

- (-) : gîte négatif (aucune larve ou nymphe n'a été trouvée sur les supports) ;
- (+) : au moins 10 larves ou nymphes ;
- (++) : 11 à 50 larves ou nymphes ; ou
- (+++) : plus de 50 larves ou nymphes.

Les résultats de la prospection sont consignés sur une fiche de prospection de terrain (voir ci-dessous), avec en notes les informations complémentaires suivantes : bassin versant, nom de la rivière, gîte larvaire, coordonnées GPS du gîte, densité des stades préimaginaux, vitesse de courant et température de l'eau. Si des œufs sont trouvés, cette information doit également être incluse.

Fiche de prospection de terrain

Bassin	Rivière	Gîte larvaire	Coordonnées	Espèce de simulié				Remarques			
				JL	LA	N	CV	Vitesse	Temp.	Œufs	

JL : jeunes larves ; LA : larves âgées ; N : nymphes ; CV : cocons vides

Nom du captureur : _____ Date de collecte _____

6.5 Méthodes spécifiques de prospection du groupe *Simulium neavei*

Les stades préimaginaux du groupe *S. neavei* sont principalement phorétiques et vivent sur des espèces de crabes d'eau douce appartenant au genre *Potamonautes* (se reporter au Chapitre 2). Les espèces les plus couramment observées en Afrique de l'Est et centrale sont *P. aloysiisabaudiae*, *P. niloticus*, *P. antheus*, *P. pseudoperlatus*, *P. granviki* et *P. johnstoni* (62). Afin d'évaluer le taux d'infestation de *S. neavei* dans un système fluvial, ces crabes doivent être collectés à l'aide d'un outil de piégeage (pièges tressés coniques, Fig. 6.6), puis inspectés pour déterminer la présence éventuelle de larves et nymphes de simuliés (Fig. 6.7). C'est la principale différence entre les méthodes de prospection utilisées pour *S. neavei* et celles qui sont utilisées pour *S. damnosum s.l.*

Figure 6.6. Préparation de pièges tressés destinés à piéger les crabes d'eau douce dans le cadre de la prospection des stades immatures de *S. neavei* dans une rivière en Ouganda.



Source : photographie de A. Krueger

Figure 6.7. Larves et nymphes de *S. neavei* fixées sur les pattes et la carapace d'un crabe d'eau douce. Noter les larves et les cuticules nymphales sur les pattes et la carapace inférieure.



Source : photographie de R. Garms

Protocoles de terrain pour l'utilisation d'un piège tressé conique pour les crabes de rivière

1. En guise d'appât, couper de la viande fraîche en petits morceaux et les attacher chacun à une corde d'environ 50 cm.
2. Introduire la viande dans le piège par l'ouverture plus étroite, en laissant les morceaux en suspension à l'intérieur, puis bloquer l'ouverture avec de l'herbe ou des feuilles bien formées. Vérifier que ce blocage est bien solide.
3. Regarder par un petit trou situé sur le côté du piège pour vérifier que le morceau de viande est correctement suspendu.
4. Lorsque tous les pièges ont été préparés avec l'appât, chercher dans la rivière un emplacement approprié, de préférence rocheux, au bord ou au milieu du cours d'eau où la force du courant ne pourra pas emporter le piège.

5. Placer le piège dans l'eau en veillant à l'immerger, puis le recouvrir d'herbe ou de feuilles pour le camoufler. Orienter le côté du piège avec la plus grande ouverture dans le sens du courant.
6. À l'aide de longues cordes, ancrer les pièges à des objets placés dans la rivière ou sur la berge.
7. Une fois que tous les pièges sont dans l'eau, noter l'heure et les laisser en place pendant 60 minutes. Dans de rares cas où très peu de crabes sont présents, les pièges peuvent rester dans l'eau toute la nuit (63).
8. Au bout d'une heure, retirer tous les pièges et mettre les crabes dans un conteneur. Ajouter plus d'eau pour assurer que les crabes sont propres avant de procéder au comptage des stades immatures qui y sont fixés. Consigner ces informations dans un formulaire standard (voir ci-dessous).
9. Examiner les crabes un par un et mesurer la taille de la carapace avec un pied à coulisse, en consignant séparément les crabes mâles et femelles.
10. Immédiatement après avoir évalué l'infestation des crabes, ceux-ci doivent être replacés dans la rivière ou le ruisseau.
11. Des relevés GPS doivent être consignés pour tous les sites où des crabes ont été capturés.
12. La prospection se poursuit jusqu'à ce que la rivière ou le ruisseau ait été complètement évalué, et les résultats sont ensuite reportés sur une carte pour planifier le traitement larvicide au sol ou toute activité de lutte antivectorielle.

Formulaire d'enregistrement des captures de crabes pour *S. neavei*

District, zone de gouvernement local, état : _____ Comté : _____
 Zone de foyer ou de transmission : _____ Village : _____
 Rivière : _____ Site : _____
 Coordonnées du site : _____ pH : _____ O₂ dissous (mg/L) : _____
 Conductivité : _____ Temp. : _____ Débit (m³/s) : _____

Nom de l'équipe de terrain											
1.						3.					
2.						4.					
Date						Date					
N°	Taille du crabe (mm)		Stades préimaginaux de <i>S. neavei</i>			N°	Taille du crabe (mm)		Stades préimaginaux de <i>S. neavei</i>		
	♀	♂	L	N	CN		♀	♂	L	N	CN

L: larve; N: nymphe; CN: cuticule nymphale

Commentaires: _____

Source: Programme national de lutte contre l'onchocercose, Ouganda

Chapitre 7.

Collecte et conservation de larves de simulies pour l'identification cytotaxonomique

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 7

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre les protocoles de collecte et de conservation des larves de simulies pour la cytotaxonomie ;
- connaître la différence entre un échantillon et un spécimen ;
- savoir préparer une solution de Carnoy ;
- reconnaître les larves appropriées pour la collecte et la conservation ;
- collecter et conserver les larves ;
- étiqueter et documenter le matériel collecté ;
- stocker correctement les larves après la collecte ; et
- préparer le matériel et les réactifs pour la collecte et la conservation des larves.

Avertissement 1 : Ce protocole exige que des membres d'équipe manipulent de la solution de Carnoy et de l'acide acétique, qui sont tous deux corrosifs et ne doivent pas être utilisés sans avoir reçu la formation appropriée en matière de santé et de sécurité.

Avertissement 2 : Ce protocole exige que l'entomologiste pénètre dans les rapides de la rivière pour collecter les larves de simulies. Cette activité est dangereuse et ne doit pas être effectuée sans avoir reçu la formation appropriée en matière de santé et de sécurité.

7.1 Introduction

La cytotaxonomie est la pratique de la taxonomie par l'observation des disparités entre les cellules des organismes, dont la plupart sont des différences chromosomiques. Toutes les études cytotaxonomiques des simulies impliquent l'examen microscopique de chromosomes spéciaux (géants), ou chromosomes polytènes, que l'on trouve dans les glandes salivaires des larves. Ces chromosomes polytènes étant difficiles à voir chez les imagos et les nymphes de simulies, le stade à préférer pour la cytotaxonomie est celui des larves collectées dans les gîtes larvaires (Chapitre 6). Occasionnellement, pour des projets de recherche particuliers, des larves d'espèces vectrices peuvent être élevées en laboratoire à des fins de cytotaxonomie, mais cette méthode n'est pas courante et n'entre pas dans le cadre de ce manuel.

Le Chapitre 4 décrit les raisons pour lesquelles la cytotaxonomie est utilisée. Ce type d'étude n'est requis que pour identifier les membres du complexe d'espèces *S. damnosum*. D'autres espèces vectrices qui piquent les humains (comme les membres du groupe *S. neavei* et les simulies des Amériques) peuvent être identifiées en étudiant leurs caractères morphologiques au microscope (se reporter au Chapitre 4) et ne nécessitent pas l'examen des chromosomes.

La qualité de la collecte et de la conservation est un facteur très important pour assurer la préparation réussie des chromosomes polytènes larvaires. Par conséquent, l'étude cytotaxonomique de la simulie exige des méthodes et des compétences spécialisées en matière de collecte et de conservation des larves afin de garantir de bonnes préparations.

Le terme « spécimen » désigne une seule larve collectée dans un gîte larvaire, tandis qu'un certain nombre de larves collectées simultanément dans le même gîte s'appelle un « échantillon » (de la population locale de larves sauvages) et comprend tous les spécimens collectés en ce lieu à ce moment. Une « collection » provenant d'un gîte à un moment donné est aussi un échantillon, mais une collection dans un musée ou dans un laboratoire comprend habituellement de nombreux échantillons provenant de différents endroits et de nombreux échantillons prélevés à différents moments.

7.2 Trouver et choisir les larves de simulies pour la cytotaxonomie

La cytotaxonomie est uniquement utilisée pour les membres du complexe *S. damnosum*, par conséquent, les larves étudiées pour cette méthode sont collectées systématiquement uniquement à partir de gîtes larvaires de *S. damnosum s.l.* Il est relativement facile de reconnaître les larves de simulie sur le terrain car elles s'orientent au gré du courant en s'accrochant à la végétation, aux rochers et à d'autres objets (Fig. 2.4) ; cependant, il est souvent difficile d'identifier avec précision les espèces de larves de simulie sur le terrain. Les spécimens de plus

grande taille, souvent de couleur plus foncée, collectés dans les gîtes larvaires typiques de *S. damnosum s.l.* dans les parties les plus rapides d'une rivière, sont néanmoins habituellement des membres de ce complexe d'espèces. Quelques spécimens d'autres espèces peuvent être inclus accidentellement dans un échantillon, mais peuvent être séparés et éliminés plus tard au laboratoire.

Les chromosomes polytènes étudiés pour la cytotaxonomie se trouvent dans les glandes salivaires des larves. Ils se développent à mesure que la larve arrive à maturité, et la cytotaxonomie n'est possible qu'avec les plus gros chromosomes du dernier stade (7^{ème} stade) ou de l'avant-dernier stade préimaginal (6^{ème} stade) (Fig. 2.3). Les glandes salivaires des larves ont pour fonction de sécréter de la soie et, comme les nymphes n'en sécrètent pas, ces glandes commencent à changer à la fin du dernier (7^{ème}) stade, juste avant la nymphose. Par conséquent, les larves les plus âgées (dotées d'histoblastes noirs) ne sont pas le meilleur choix pour les préparations chromosomiques, et les larves du dernier stade dotées d'histoblastes blancs (du 6^{ème} stade) sont à préférer (Fig. 7.1). Ces différences sont cependant difficiles à distinguer lors des travaux de terrain, et pour la plupart, l'équipe se contente de collecter les larves de grande taille (voir Fig. 4.2A).

Figure 7.1. Derniers stades préimaginaux de *S. damnosum*. Le 6^{ème} et début du 7^{ème} stade sont à préférer pour l'étude cytotaxonomique.



Source : photographie de R.J. Post

7.3 Collecte et conservation des larves de similies

7.3.1 Généralités

La fixation des larves est effectuée systématiquement sur les berges de la rivière, immédiatement après la collecte. Exceptionnellement, des sachets en plastique peuvent être remplis d'air et conservés sur glace dans une glacière pendant quelques heures afin que les larves puissent être transportées et fixées ultérieurement au laboratoire. On risque cependant que les larves soient ainsi asphyxiées ou stressées et qu'elles meurent pendant le voyage et, le cas échéant, qu'elles produisent de mauvaises préparations chromosomiques.

Pour l'étude cytotaxonomique, les larves doivent être collectées vivantes et intactes. Une pince souple et flexible est l'outil idéal pour manipuler les larves de similies vivantes ; cependant, avec de l'expérience, une pince Dumont ou d'autres pinces rigides peuvent être utilisées (Fig. 7.2).

Figure 7.2. Pince adaptée à la manipulation des larves vivantes (pince Dumont en haut, pince souple en bas).



Source : photographie de R.J. Post

Le fixateur conventionnel accepté pour la cytotaxonomie est la solution de Carnoy, et les larves doivent y être déposées vivantes (ou au moins fraîchement disséquées, voir ci-dessous), ce qui les tuera en quelques secondes. Le Carnoy est un mélange de trois parts d'éthanol et d'une part d'acide acétique, sans eau (c.-à-d. un mélange 3:1 d'éthanol absolu et d'acide acétique glacial). Certaines formulations plus anciennes incluent du chloroforme, mais cela est inutile et obsolète. Il est important que les réactifs soient exempts d'eau : l'acide acétique doit être glacial et l'éthanol absolu (ou à 98 % au moins).

Le Carnoy ne peut pas être conservé et doit être préparé extemporanément sur place sur les berges de la rivière pour chaque échantillon ou lot (voir ci-dessous).

Il existe plusieurs méthodes pour préserver les larves de simulies en vue de la cytotaxonomie. Celles-ci diffèrent principalement par la manière dont les larves sont manipulées après leur retrait du sachet plastique utilisé pour la collecte, sur les berges de la rivière, avant qu'elles ne soient fixées. Tout excès d'eau peut être éliminé, elles peuvent être conservées sur glace ou disséquées avant la fixation. La méthode décrite ci-dessous permet de fixer des larves entières intactes ; il s'agit de la méthode la plus courante et la plus simple.

Matériels et réactifs requis pour la collecte et la conservation des larves de simulies pour la cytotaxonomie

Produits chimiques : acide acétique glacial, éthanol absolu

Matériel et équipement : pince, canif, aiguilles à dissection, seringue de 10 ml, flacons en verre de petite taille (8 ml), flacons en verre universels (28 ml) (Fig. 7.3), réfrigérateur pour la conservation, glacière, blocs réfrigérants ou blocs de glace, papier filtre Whatman® n°4 (n'importe quelle taille).

Le matériel et les spécimens sont en général conservés dans un réfrigérateur. Si une alimentation électrique constante ne peut être garantie par le fournisseur local ou national, il est indispensable de disposer d'un générateur électrique de secours.

Figure 7.3. Flacon universel de 28 ml (à gauche) et flacon plus petit (à droite) pour contenir et mélanger les réactifs pour le Carnoy.



Source : photographie de R.J. Post

7.3.2 Protocole de préparation du Carnoy et de collecte de larves pour la cytotaxonomie

La méthode décrite ci-dessous permet de fixer des larves entières intactes ; il s'agit de la méthode la plus courante et la plus simple.

- Au laboratoire, utiliser une seringue de 10 ml pour déposer 21 ml d'alcool absolu dans 10 flacons universels de 28 ml.
- Placer de la glace ou des blocs réfrigérants dans la glacière avec les 10 flacons d'alcool absolu. Étiqueter correctement les flacons. En l'absence de glace, placer les flacons dans de l'eau fraîche.
- À l'aide d'une autre seringue de 10 ml ou d'un appareil de mesure approprié, déposer 7 ml d'acide acétique dans des flacons de 8 ml et les étiqueter correctement. Ne pas placer ces flacons directement sur la glace car ils gèleraient ; ils peuvent cependant être transportés dans la glacière s'ils sont isolés contre le gel (en les enveloppant dans une serviette par exemple).
- Transporter tous les flacons d'alcool absolu et d'acide acétique jusqu'au gîte larvaire choisi pour la collecte.
- En bordure du gîte (sur les berges de la rivière), prendre un flacon universel contenant 21 ml d'alcool absolu de la glacière, l'ouvrir et y ajouter le contenu (7 ml) d'un flacon d'acide acétique, pour obtenir un volume final de 28 ml de Carnoy. **Remarque :** Il faut porter des gants pendant cette procédure pour éviter tout contact avec le mélange final.
- Fermer hermétiquement le bouchon et mélanger en agitant pour obtenir une solution homogène.
- Avancer dans la rivière (en portant les vêtements et équipements de sécurité adaptés, et muni d'une pince et d'un sachet en plastique transparent assez grand), et se rendre aux emplacements propices pour trouver des larves. À l'aide d'un canif, retirer soigneusement du gîte larvaire les supports (surtout des débris végétaux tels que brindilles et feuilles, mais aussi des pierres) et sélectionner ceux qui portent le plus de larves de *S. damnosum s.l.*
- Ces dernières sont en général de plus grande taille et souvent plus sombres que celles d'autres espèces, et elles se recroquevillent en U dès que le support est hors de l'eau. À l'encontre, les larves d'autres espèces de similies continuent souvent à bouger. Placer les supports qui portent les larves dans le sachet en plastique. Éliminer l'excès d'eau et poursuivre la recherche. Si les supports sont impossibles à retirer (des roches par exemple), les larves peuvent être retirées en raclant le support, puis placées dans le sachet. Lorsque suffisamment de larves ont été collectées, retourner à la berge.
- Éponger délicatement les larves des supports sélectionnés à l'aide d'un papier filtre pour éviter de diluer le Carnoy.
- Retirer les larves avec une pince et les déposer dans le flacon rempli de Carnoy. Recommencer avec un autre support jusqu'à ce que le flacon contienne environ 50 larves. S'il y a plus de 50 larves, utiliser un deuxième flacon.
- Placer une étiquette d'échantillon indiquant le nom de la rivière et du lieu, la date et les coordonnées GPS, écrits au crayon, à l'intérieur du flacon et le refermer.
- Préparer un deuxième flacon de solution de Carnoy. Déverser l'ancien Carnoy de l'échantillon larvaire et le remplacer avec du Carnoy préparé extemporanément.
- Remettre le flacon dans la glacière. Ne pas laisser d'eau pénétrer dans le flacon de Carnoy.
- Transporter les larves collectées dans le Carnoy au laboratoire dans la glacière.
- Au laboratoire, préparer un troisième flacon de Carnoy. Déverser l'ancien Carnoy de l'échantillon et le remplacer avec une solution préparée extemporanément.
- Conserver tous les spécimens au réfrigérateur. Dans ces conditions, les larves devraient présenter des chromosomes lisibles même après 2 ans de conservation.

En l'absence de réfrigérateur, il faut changer le Carnoy une fois par semaine. Les échantillons dans le Carnoy peuvent néanmoins être conservés pendant de courtes périodes à température ambiante (quelques jours, pour le transport par exemple). Il est toujours préférable de les conserver au frais.

Le matériel stocké peut être envoyé par avion n'importe où dans le monde, mais le transporteur doit être consulté pour garantir qu'aucune restriction ne s'applique au matériel conservé dans du Carnoy. Les flacons de petite taille sont d'excellents conteneurs pour l'expédition car ils sont presque impossibles à casser. Il peut être nécessaire de déverser l'excédent de Carnoy avant de procéder à l'emballage final. Le colis doit être clairement étiqueté : « FRAGILE. Insectes conservés aux fins d'étude scientifique. Sans valeur commerciale. »

7.3.3 Variations facultatives du protocole de collecte

Utilisation de glace pour le transport des larves pour la cytotaxonomie (d'après la méthode de l'OCP)

De la glace peut être utilisée pour transférer les larves vivantes du terrain au laboratoire, où elles peuvent être alors fixées dans le Carnoy. Le transport de larves vivantes est parfois problématique car, par temps chaud ou dans des climats chauds, les larves peuvent être affectées peu de temps après avoir été retirées de l'eau courante et leurs chromosomes géants peuvent se détériorer. Ce problème est largement résolu en immobilisant les larves sur de la glace immédiatement après leur collecte.

Diverses méthodes ingénieuses ont également été élaborées. Par exemple, en présence d'une quantité limitée de glace ou si l'on ne peut pas transporter trop de poids, des contenants isothermes à large ouverture peuvent être remplis de glace pilée pour loger les larves pendant une journée. Les larves sont d'abord collectées dans un flacon, qui est ensuite bouché et placé dans la glace du contenant isotherme. Les larves ne doivent pas être trop serrées au point d'être dénuées d'air dans le flacon, et il ne doit pas non plus y avoir d'eau autre que celle adhérant aux larves.

Une autre méthode consiste à utiliser une grande boîte isotherme dotée d'un drainage adéquat pour transporter plusieurs jours d'approvisionnement en glace dans un véhicule. Mais la rapidité d'immobilisation des larves reste essentielle. Certains agents de terrain utilisent des sachets en polyéthylène. Les brindilles, feuilles et autres supports sur lesquels les larves sont fixées, avec une certaine quantité d'air, sont scellés dans les sachets à l'aide d'un élastique. Si le site de collecte est éloigné de la glacière, il est utile d'avoir un contenant isotherme à large ouverture.

Une fois sur glace, les larves immobilisées sont souvent dénuées de mouvement et peuvent sembler mortes. Elles prennent habituellement une légère forme de S. Cependant, elles deviennent vite très animées si on les laisse se réchauffer doucement pendant quelques minutes. On ne sait pas combien de temps les larves peuvent rester immobilisées sur glace, mais par le passé, stocké de cette manière pendant 3 jours, *S. damnosum* (forme Sanje) a produit de bonnes lames.

Le principal avantage de cette méthode de collecte est la production régulière de lames de chromosomes de très bonne qualité. L'activité métabolique étant presque complètement arrêtée, les larves peuvent ainsi être examinées dans un lieu plus approprié, c'est-à-dire au laboratoire. Le processus chronophage d'élimination des spécimens indésirables (comme les larves de complexes non-*damnosum* ou de la mauvaise taille) alors qu'ils se trouvent dans une mare de glace fondante ou même sur un bloc de glace, sans altérer la qualité des lames, ne pose alors plus un problème. Les larves immobilisées restent viables et peuvent également être incitées à poursuivre leur développement dans les systèmes d'élevage en laboratoire. Cette approche est cependant rarement utilisée car d'autres méthodes permettent habituellement d'obtenir des chromosomes de qualité suffisante et sont beaucoup plus pratiques.

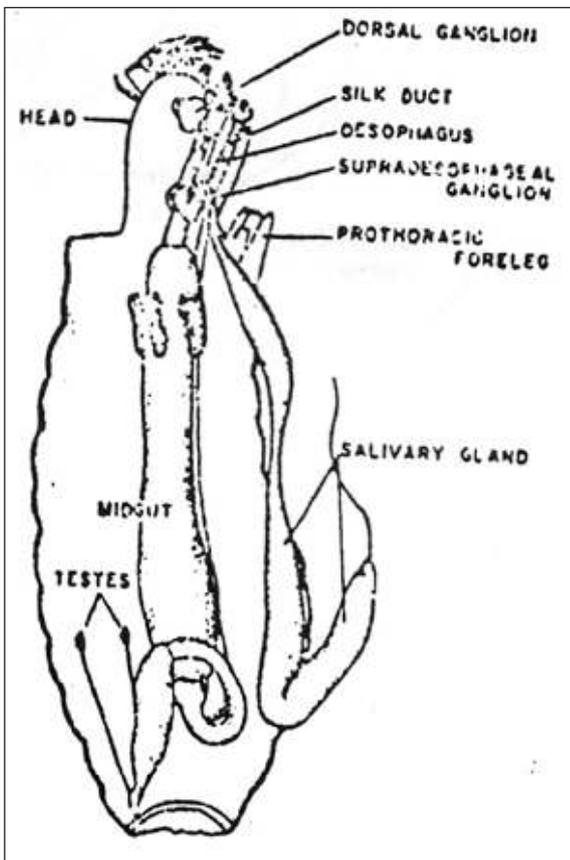
Dissection des larves sur place avant la fixation

Avec cette méthode, les larves sont fixées sur le terrain le plus rapidement possible pour éviter la détérioration des chromosomes polytènes, en permettant au Carnoy de pénétrer très rapidement dans le corps larvaire.

Pour y parvenir, les larves sont disséquées sur les berges de la rivière avant leur fixation. Cette méthode est rarement utilisée car d'autres permettent d'obtenir des préparations de chromosomes de qualité suffisante et sont beaucoup plus pratiques.

Les glandes salivaires appariées (glandes à soie) sont extrêmement grandes, s'étendant sur les deux tiers ou plus de la longueur du corps, puis rebroussement chemin en direction de la tête (Fig. 7.4). Pour les exposer, la dissection est plus facile si l'on utilise un microscope optique de faible puissance. Les larves doivent d'abord être placées sur une surface appropriée (comme une lame ou le dos d'une boîte de Pétri), une par une ou plusieurs à la fois. L'excès d'eau qui adhère aux larves doit être éliminé par un léger buvardage.

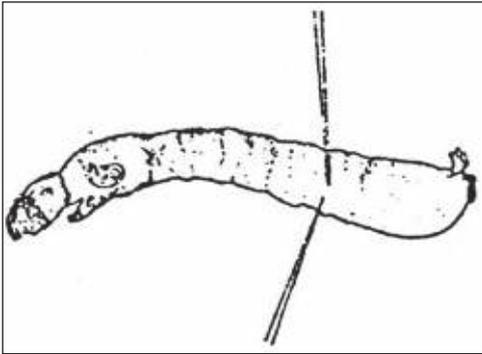
Figure 7.4. Dissection latérale d'une larve de *Simulium*, montrant les glandes salivaires.



Source : référence 64

On déchire le tiers distal du corps larvaire en insérant deux aiguilles pointues ou pinces près du sommet du renflement, et en les écartant pour créer un trou dans la paroi du corps (Fig. 7.5). En général, les glandes salivaires, et parfois d'autres organes, ressortent alors d'elles-mêmes. La larve entière est ensuite rapidement placée dans la solution de Carnoy. Si les larves ont été conservées sur glace, il est recommandé de réaliser la dissection dans un environnement relativement frais, par exemple sur une surface refroidie (comme un bloc de glace), ou en soirée, ou les deux, et que le Carnoy soit froid lui aussi.

Figure 7.5. Larve préparée pour la dissection en déchirant le tiers distal du corps. Deux aiguilles pointues ou pinces sont insérées près du sommet du renflement pour créer un trou dans la paroi du corps.



Chapitre 8.

Collecte et capture sur appât humain des simuliés femelles pour l'évaluation entomologique

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 8

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre l'importance de la capture sur appât humain pour la surveillance entomologique ;
- sélectionner des membres de la communauté appropriés pour la capture sur appât humain ;
- coordonner des activités de collecte sur le terrain ;
- comprendre l'utilisation du piège à fenêtre Esperanza (EWT) pour vérifier l'élimination de l'onchocercose ;
- déployer et exploiter des pièges EWT sur le terrain ; et
- remplir tous les formulaires de terrain pour la conservation et l'analyse des données.

8.1 Capture sur appât humain

La technique de capture sur appât humain est la référence mondiale en matière de collecte de simulies. Les collecteurs de mouches sont appelés « captureurs villageois » (CV) ou appâts humains (Chapitre 5). La capture sur appât humain donne généralement des informations sur la densité par personne relative des populations de femelles piqueuses des espèces vectrices de *Simulium* spp dans un lieu et sur une période donnés (65). Cette approche implique la collecte de simulies femelles attirées par les humains avant qu'elles ne parviennent à se nourrir de sang sur la peau exposée d'une personne (66, 67). Les CV doivent s'asseoir (normalement) ou se tenir debout le long des berges de la rivière ou dans une zone désignée à proximité immédiate des gîtes larvaires pour attirer et capturer les mouches qui se posent sur leurs jambes ou leurs bras exposés. Cette technique est une approche directe de la collecte de simulies anthropophiles et permet ainsi d'estimer facilement une composante fondamentale de la capacité vectorielle, à savoir le taux de piqûres par personne. Les indices de transmission d'*Onchocerca volvulus* peuvent également être déterminés si l'on connaît le taux d'infection des L3 dans les têtes des simulies. À mesure que les simulies sont collectées, le taux d'atterrissage mesuré à partir des collections est considéré comme une estimation du taux de piqûres sur une unité de temps (quotidienne, mensuelle, annuelle), bien que cette approche surestime probablement le taux de piqûres réel, vu qu'une proportion du nombre de simulies atterrissant dans un cadre naturel ne parvient pas à se nourrir de sang.

8.2 Sélection des captureurs sur appât humain

La sélection des captureurs et des sites optimaux pour la collecte des simulies par capture sur appât humain dans une communauté peut s'avérer difficile si les discussions et la mobilisation de la communauté sont insuffisantes avant de commencer le processus. La collecte par les humains peut être limitée par des facteurs tels que la couleur de la peau, l'odeur corporelle, l'éthique de travail et les compétences (68). Pour réduire le plus possible les effets de ces différences entre les collecteurs, l'entomologiste doit sélectionner des personnes représentatives de la communauté d'endémie locale. Pour tenir compte de ces facteurs de confusion (et éviter les biais de position), les captureurs et les points de capture doivent être alternés quotidiennement.

Pour maximiser la participation de la communauté aux travaux, l'entomologiste doit assurer ce qui suit :

- Les communautés doivent être adéquatement informées quant à l'importance du protocole d'évaluation et d'étude entomologique.
- Les dirigeants communautaires et les leaders d'opinion doivent pouvoir désigner les captureurs potentiels.
- La préférence doit être accordée aux résidents de la communauté qui sont disponibles pour cette tâche afin de promouvoir un sentiment d'appropriation et de garantir leur acceptation des résultats de l'évaluation. C'est aussi une des manières de favoriser la sécurité sur le terrain.
- Lorsque cela est possible, la préférence soit être accordée aux personnes de jeune âge, capables et agiles ; l'alphabétisation est un avantage supplémentaire.
- Les honoraires versés à chaque captureur de vecteurs ne doivent pas être divulgués aux dirigeants communautaires tant que la sélection n'est pas terminée.
- Les captureurs doivent être payés en plusieurs fois, selon la coutume locale, pour garantir qu'ils restent motivés tout en effectuant leur travail.
- Tous les captureurs doivent recevoir du Mectizan® conformément à la campagne d'administration de masse en cours ou au moins 1 semaine avant la collecte.

8.3 Sélection des sites pour la capture sur appât humain

Les sites de capture sur appât humain sont habituellement sélectionnés de deux manières : soit les gîtes larvaires établis sont utilisés pour la surveillance entomologique de routine, soit la collecte est basée sur des captures ponctuelles. Les captures ponctuelles doivent être effectuées lorsqu'on manque de connaissances préalables sur les gîtes larvaires des simulies ou sur l'activité de piqûre dans une zone ; il s'agit d'une méthode de surveillance rapide des simulies vectrices.

8.3.1 Utilisation des gîtes larvaires établis

Des points de capture peuvent être prévus le long des rivières propices à la reproduction des espèces vectrices de *Simulium* (se reporter au Chapitre 5). Les critères suivants doivent être pris en compte lors de la sélection d'un point de capture pour la surveillance entomologique de routine, conformément à la procédure standard (65). Le point de capture doit :

- être ombragé, avec peu ou pas de perturbations dues au vent ;
- ne pas être un lieu de rassemblement humain, afin d'éviter de diluer l'activité de piqûre (à savoir quand les mouches ont accès à des personnes qui ne font pas partie de l'équipe de capture) et de perturber les captureurs humains ;
- permettre aux captureurs d'être facilement visibles pour les simulies en quête ; et
- sans danger et accessible toute l'année.

8.3.2 Captures ponctuelles

Les captures ponctuelles impliquent l'échantillonnage aléatoire de sites de collecte potentiels sans connaissance préalable de la densité de piqûres de simulies dans ces zones. Les captureurs humains sont affectés pendant quelques heures à un seul emplacement, puis déplacés vers un autre site. Les captures ponctuelles permettent ainsi de déterminer si les simulies piquent dans une zone et, le cas échéant, quel emplacement serait le meilleur pour une surveillance à long terme.

8.4 Protocoles pour la capture sur appât humain

8.4.1 Équipement et matériel requis

Outre les dispositions logistiques, les fournitures suivantes sont nécessaires pour la collecte des mouches :

- tubes de collecte à bouchon, généralement en polypropylène et mesurant 70 x 12 mm ;
- sachets en coton pour ranger les tubes contenant des mouches pendant la journée ;
- laine de coton ;
- Flacons universels de 28 ml ou de plus petite taille (verre moulé ; ampoules et flacons en verre Essco ; se reporter au Chapitre 7) ;

- alcool à 80 % ;
- pipette ou dispositif similaire pour distribuer l'alcool ;
- glacière avec bloc réfrigérant (si des blocs sont indisponibles, une serviette humide peut être utilisée) ;
- crayon ou marqueur indélébile ; et
- formulaires d'enregistrement.

8.4.2 Méthodes de capture sur appât humain

Les deux méthodes de base pour ce type de capture sont la capture normalisée et en vrac.

i) Capture normalisée ou collecte standardisée

La capture normalisée est la méthode standard de collecte pour estimer les indices de transmission d'*O. volvulus* dans un foyer (66). Ces captures peuvent être effectuées quotidiennement, deux fois par semaine ou deux fois par mois, selon le protocole de l'étude et son objectif général. Elles ne sont plus réalisées aussi fréquemment que les captures en vrac, mais ont été largement utilisées dans les premiers programmes de lutte pour suivre les progrès. Telles qu'utilisées à l'origine, ces captures normalisées fournissaient des données sur les taux de piqûres et les taux d'infection parasitaire afin de calculer le potentiel de transmission par unité de temps (voir les Chapitres 9 et 11).

Le protocole est le suivant :

- Former au moins deux CV dans la communauté.
- Les deux CV affectés au point de capture désigné (à environ 10 m d'un gîte larvaire de vecteurs documenté) collectent les mouches en alternance (en rotation) toutes les heures entre 7h00 et 18h00 chaque jour de capture. Si le captureur A commence à 07h00 le jour 1, alors le captureur B doit commencer à 07h00 le jour 2 (en plus des rotations horaires). Sinon, les estimations issues des collectes horaires pourraient être biaisées par les différences d'attractivité des captureurs pour les simules. Dans certains pays des Amériques, les périodes de collecte prévues étaient de 50 ou 40 minutes avant de prendre une pause de 10 ou 20 minutes.
- Le CV expose la partie inférieure de ses jambes et récupère toute simule qui se pose sur sa peau exposée. Cette personne devrait de préférence porter des shorts ou retrousser son pantalon pendant les heures de capture (Fig. 8.1).
- La simule qui se pose sur la peau exposée est capturée avant qu'elle ne prenne son repas de sang, en posant dessus un petit tube en plastique (tube de collecte) retourné et en remplaçant immédiatement le bouchon du tube pour empêcher la mouche de s'échapper. Un aspirateur peut également être utilisé.
- Les tubes de collecte contenant des simules sont conservés dans une glacière avec un bloc réfrigérant avant d'être transportés vers un laboratoire local aux fins d'analyse. En option, dans les zones éloignées où il est difficile d'obtenir des blocs réfrigérants, les tubes peuvent être enveloppés dans une serviette humide, qui doit être à nouveau mouillée avant que les tubes contenant les mouches ne soient transportés au laboratoire. Des précautions doivent être prises pour éviter la condensation de l'eau à l'intérieur des tubes, et ceux-ci doivent être transportés vers un laboratoire local quelques heures après le prélèvement. Selon le protocole, il est préférable de disséquer les simules sur le terrain ou au laboratoire local pour déterminer la parité et l'infectiosité peu après la collecte (Chapitre 9).
- Lorsque les mouches sont collectées pour la PCR, elles doivent être transférées dans de petits flacons en verre contenant de l'alcool à 80 % au moins (80 ml d'alcool absolu plus 20 ml d'eau distillée) pour une analyse plus approfondie.

- Une fois au laboratoire, les tubes contenant les simulies doivent être conservés à 4 °C au réfrigérateur ou dans une glacière avec des serviettes en papier humides jusqu'au moment voulu.

Figure 8.1. Collecte de *S. damnosum s.l.* par capture sur appât humain (A) et mouches capturées dans un tube de collecte (B).



A

B

Source : photographies de M. Adeleke

ii) Capture en vrac

Le but des captures en vrac est de collecter autant de simulies femelles que possible dans une zone à un moment donné aux fins d'analyse ultérieure par PCR (Chapitre 10). Cette approche est utilisée pour capturer suffisamment de mouches pour répondre aux critères de l'OMS pour arrêter l'AMM et pour la surveillance post-traitement. Certains programmes n'effectuent pas de captures en vrac mais utilisent uniquement la méthode normalisée pour la PCR (pas de dissection). Cela peut dépendre du nombre de mouches capturées, selon les connaissances historiques sur la productivité du gîte larvaire.

À quelques différences près, le protocole pour la capture en vrac est similaire à celle pour la capture normalisée.

- Au lieu d'une personne collectant des mouches toutes les heures, au moins quatre personnes sont affectées pour attirer et collecter les mouches entre 7h00 et 12h00, et une autre équipe (composée d'au moins quatre personnes) reprend la collecte de 12h00 à 18h00. Les captureurs sont habituellement espacés de 20 à 50 m et peuvent travailler individuellement, comme en Afrique (Fig. 8.1), ou par équipes de deux (attracteur et captureur), comme c'est le cas dans les Amériques.
- Les mouches collectées par cette méthode sont en générale conservées dans des petits flacons en verre contenant de l'alcool à 80 %, qui sont placés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à utilisation.

8.5 Pièges à fenêtre Esperanza pour la collecte des simulies

Dans plusieurs pays africains, l'utilisation d'un piège à fenêtre Esperanza, appelé piège EWT, au lieu de captureurs villageois pour collecter les simulies à la recherche d'un repas de sang est en cours d'évaluation. Même si les premiers résultats sont très encourageants, cette technologie est encore en développement et des améliorations pourraient être apportées à ces pièges ou aux protocoles proposés. Les programmes dans lesquels des pièges EWT n'ont pas été utilisés devraient consulter les programmes les ayant essayé et s'informer des mises à jour de l'OMS.

8.5.1 Développement du piège à fenêtre Esperanza

La technique de capture sur appât humain, un protocole fondamental utilisé pour surveiller de nombreuses maladies à transmission vectorielle, a été critiquée à la fois pour ses limites et les risques éthiques qui y sont associés (69). Les principales considérations sont le fait que ce protocole est chronophage et que les CV risquent de subir un grand nombre de piqûres. En outre, la collecte d'au moins 6 000 simulies, qui est nécessaire pour vérifier l'interruption de la transmission, peut être difficile dans certaines zones.

Bien que plusieurs tentatives aient été faites pour développer des pièges à simulies (70, 71), les résultats ont été limités en termes d'application et d'adaptabilité à diverses zones écologiques. Le piège EWT a été mis au point et optimisé pour la collecte de *S. ochraceum* en quête d'hôtes en 2012 et en 2013 dans le sud du Mexique (69). Il consistait en une combinaison de signaux olfactifs et d'attractifs visuels pour attirer les mouches sur une surface collante, où elles étaient immobilisées et piégées. Le piège, fabriqué en tissu bleu (1 m x 1 m), était appâté avec du dioxyde de carbone d'origine organique, produit à partir d'un mélange de sucre et de levure (*Saccharomyces cerevisiae*) et de l'eau, avec BG-Lure™, un attractif disponible dans le commerce constitué d'un mélange de composés présents dans les sécrétions cutanées humaines, comme l'ammoniac, l'acide lactique et l'acide caproïque (Biogents AG, Regensburg, Allemagne), ou avec une chemise ayant déjà été portée. Par rapport à la méthode de capture sur appât humain, le piège EWT a capturé un nombre similaire de femelles *S. ochraceum s.l.* (vecteur anthropophile dominant en Méso-Amérique). Au Mexique, le piège était habituellement suspendu à un arbre à une hauteur comparable à la partie supérieure du corps humain, car *S. ochraceum s.l.* pique de préférence au-dessus de la taille en Amérique Latine.

En raison des différences entre les simulies de Méso-Amérique et d'Afrique sur le plan de l'écologie et du comportement de sélection des hôtes, Toé et al. (72) ont modifié le piège EWT afin de l'utiliser au Burkina Faso pour collecter *S. damnosum s.s.* et *S. sirbanum*. Ils ont montré que les pièges conçus avec un fond noir et une bande bleue au milieu et placés à environ 1,5 cm du sol (les femelles de *S. damnosum s.l.* préférant piquer les membres inférieurs) fonctionnaient bien lorsqu'ils étaient appâtés avec du dioxyde de carbone organique et avec des pantalons qui avaient été portés. Cette modification a permis de capturer un nombre similaire de simulies qu'une équipe de CV et, dans quelques cas, a permis d'en capturer davantage que la capture sur appât humain. La conception modifiée a été nommée « piège EWT (version africaine) » (Fig. 8.2).

Divers essais visant à optimiser davantage cette version du piège EWT dans plusieurs régions d'Afrique ont donné des résultats prometteurs pour son utilisation comme outil complémentaire aux méthodes de capture sur appât humain pour l'échantillonnage des *Simulium* vecteurs dans le contexte d'un programme d'élimination (68, 73). Ces essais ont également démontré que le piège est biaisé pour la collecte exclusive des femelles vectrices de *Simulium* spp en quête d'hôtes, offrant la possibilité de comparer directement les résultats avec ceux de la capture sur humains.

Figure 8.2. A. Piège à fenêtre Esperanza (version africaine originale), noir avec une large bande bleue au milieu. Le récipient en plastique jaune de 5 litres contient un mélange de levure, de sucre et d'eau pour la production organique de dioxyde de carbone. À l'origine, l'appât (objet rouge au centre du piège) était un produit commercial (BG-Lure®). B. Version 2020 du piège EWT utilisée en Ouganda. Noter que la bande noire médiane est plus petite et que l'appât le plus couramment utilisé avec le dioxyde de carbone est une chaussette ou un pantalon usagé. Noter également que le piège est placé légèrement au-dessus du sol.



A



B

Source : photographies de M. Adeleke (A) et T. Unnasch (B)

D'autres études ont été menées pour optimiser les performances du piège EWT en identifiant et en utilisant des attractifs d'origine humaine pour *S. damnosum* s.s. en Ouganda (74). Deux d'entre eux (le naphthalène et le tert-hexadecyl mercaptan) étaient très attractifs pour *S. damnosum* s.s., et les pièges appâtés avec ces composés ont surpassé ceux appâtés de la manière conventionnelle actuelle utilisant des chaussettes ayant été portées. La conception optimisée du piège avec ces deux nouveaux composés permet potentiellement de collecter un grand nombre d'insectes, soit jusqu'à 10 fois plus de simulies vectrices que la capture sur appât humain. L'évaluation des pièges EWT est en cours et les pays souhaitant les utiliser pour la collecte en vrac devraient d'abord évaluer les performances pour les cyto-espèces vectrices locales, car elles varient. Actuellement, nous manquons de données approfondies sur les cytotypes forestiers de *S. damnosum*, *S. kilibanum*, *S. albivirgulatum* et *S. neavei*. Un problème technique central est également la disponibilité d'un substitut au Tanglefoot, l'adhésif utilisé actuellement pour piéger les mouches.

La version africaine du piège EWT est facile à construire et tous ses éléments peuvent être trouvés partout en Afrique, à l'exception de cet adhésif. Des produits similaires tels que Temmen Insektenleim (<http://www.temmen.de/produkte/insektenleim.htm>) pourraient être utilisés si le Tanglefoot s'avère difficile à obtenir. Si l'acquisition d'adhésif Tanglefoot ou Temmen pose problème en raison du coût d'importation élevé, un autre produit pourrait être trouvé localement.

Il n'existe aucun moyen simple et standardisé de calibrer les captures par piège EWT avec les taux de piqûres obtenus dans le cadre de la capture sur appât humain, bien que des modèles pourraient être développés pour mettre ces résultats en corrélation (73). De tels modèles nécessiteraient cependant une collecte parallèle de données sur les taux de piqûres réels consignés par les CV. Ainsi, dans un avenir prévisible, le piège EWT est à préférer pour la capture en vrac afin de collecter le nombre de spécimens nécessaire pour répondre au critère de l'OMS consistant à tester au moins 6 000 mouches par zone de transmission pour vérifier la suppression ou l'interruption de la transmission. Une autre solution pourrait consister à déployer des pièges en même temps qu'un nombre limité de CV pour déterminer le taux de piqûres, améliorant ainsi les estimations du potentiel annuel de transmission dans les zones où la densité de piqûres est basse.

8.6 Protocoles pour le déploiement du piège à fenêtré Esperanza sur le terrain

8.6.1 Matériel et consommables requis

- levure (*Saccharomyces cerevisiae*) ;
- cassonade (contenant de la mélasse) ;
- eau ;
- piège en polymère de 1 m x 1 m (bleu avec une bande noire au milieu) ;
- cadre et piquets en bois ou en métal ;
- adhésif Tanglefoot, Temmen ou substitut local ;
- pinceau ;
- gants en caoutchouc ;
- corde ;
- ciseaux ;
- fil de cuivre ;
- récipient en plastique de 5 l ;
- récipient en plastique de 2,5 l ;
- tubulure ;
- pinces ;
- petits flacons en verre ;
- essence minérale incolore (ou kérosène) ;
- isopropanol ;
- appât à odeur humaine constitué de pantalons ou chaussettes préalablement portés n'ayant pas été lavés. Hendy et coll. (68) ont trouvé que des chaussettes portées étaient un appât efficace et peut être plus faciles à acquérir que des pantalons. On peut donner aux communautés des chaussettes neuves en échange de leur paires usées ; une offre qu'elles acceptent souvent une fois qu'elles en comprennent la raison ;
- composés disponibles dans le commerce (naphtalène et *tert*-hexadecyl mercaptan) et perles aromatiques en plastique (Bitter Creek Candle Supply, www.candlesupply.com) placées dans des tubes à centrifuger coniques de 50 ml ; 40 g de perles imprégnées de l'un ou l'autre composé coûte environ 4,86 US \$;
- fiche ou formulaire d'enregistrement sur le terrain ; et
- crayon à mine (pas un stylo à encre).

8.6.2 Déploiement d'un piège à fenêtré Esperanza sur le terrain

La procédure actuelle de déploiement d'un piège EWT (version africaine) s'appuie sur des publications antérieures de Rodríguez-Pérez et coll. (75) et Toé et coll. (72), avec quelques modifications. Le protocole modifié est décrit ci-dessous.

i) Préparation : Préparation de dioxyde de carbone produit organiquement :

- Peser 30 g de levure sèche.
- Peser 500 g de sucre.
- Mesurer 2,5 l d'eau propre.
- Mélanger tous les constituants dans un récipient en plastique de 5 l.

Remarque : Le dioxyde de carbone organique doit être préparé au moins 2 heures avant de commencer le piégeage et le mélange sucre-levure doit être changé quotidiennement.

ii) Déploiement du piège sur le terrain : Les étapes d'installation des pièges pour l'évaluation entomologique sont les suivantes.

- Creuser quelques centimètres dans le sol pour ériger les deux piquets du piège à 1 m l'un de l'autre au niveau du site de piégeage choisi.
- Accrocher fermement le piège aux piquets aux deux extrémités avec du fil de cuivre ou de la corde, en veillant à ce que le piège se trouve de 15 à 20 cm au-dessus du sol.
- Enduire les deux surfaces du piège avec de l'adhésif Tanglefoot ou du Temmen à l'aide du pinceau ou d'une cuillère.
- Placer la tubulure connectée au récipient en plastique contenant le mélange levure-sucre de sorte à acheminer le dioxyde de carbone vers le piège. La tubulure doit atteindre le centre du piège, comme indiqué sur la Fig. 8.2B et doit être connectée solidement sur le côté ou sur le dessus du piège.
- Le fait d'appâter le piège avec un pantalon moite de sueur qui a été porté pendant plusieurs jours (en plus du dioxyde de carbone) améliore la capture, et les chaussettes sales d'un villageois sont aussi efficaces pour attirer les simulies (68). L'appâtage avec des chaussettes portées était plus efficace qu'avec un mélange attractif synthétique (BG-Lure).
- Les pantalons ou chaussettes utilisés comme appât doivent être retirés quotidiennement quand la collecte est terminée.
- Un appât de perles aromatiques en plastique imprégnées de naphthalène et de *tert*-hexadecyl mercaptan est également efficace. Ces composés doivent d'abord être dissous dans de l'huile minérale à une concentration de 1/100 (p/v) ; cette solution peut être utilisée pour préparer deux dilutions au 10^{ème} dans de l'huile minérale. Des aliquotes de 25 g de billes aromatiques sont ensuite déposées dans des tubes à centrifuger coniques de 50 ml et les tubes sont remplis des solutions. Placer les tubes sur un mélangeur rotatif et laisser les billes absorber les solutions pendant 2 jours. Décanter l'excès de solution des billes et boucher les tubes (74). L'appât doit être remplacé chaque semaine.
- S'assurer que les pièges sont placés perpendiculairement aux gîtes larvaires dans des zones partiellement ombragées ou légèrement exposées. **L'installation dans des zones complètement ombragées ou dans des sites excessivement exposés peut entraîner une collecte inadéquate.**
- Les adhésifs Tanglefoot ou Temen sont efficaces jusqu'à 1 mois et doivent ensuite être remplacés en nettoyant le résidu avec du kérosène et en réappliquant l'adhésif.
- Avant de procéder à la collecte, les pièges doivent être nettoyés en retirant tous les insectes ou feuilles piégés pendant la nuit à l'aide d'une pince.
- Pendant la saison des pluies, les pièges peuvent être protégés en les enveloppant de plastique polymère blanc (Fig. 8.3).

Remarque : Le Tanglefoot peut être dilué avec du kérosène pour qu'il soit moins épais et plus facile à appliquer au piège. Seule une fine couche est nécessaire et une application excessive doit être évitée. Une fois l'adhésif appliqué, laisser reposer le piège pendant au moins 24 heures avant de l'utiliser pour la collecte, afin de permettre

au kérosène de s'évaporer complètement. Si l'adhésif Temen est utilisé, il peut être dilué avec du white spirit. D'autres adhésifs peuvent nécessiter d'autres procédures et solvants.

Figure 8.3. Protection d'un piège à fenêtre Esperanza plus ancien par temps de pluie à l'aide d'un revêtement en plastique.



Source: photographie de M. Adeleke

iii) Récupération des mouches du piège : Les étapes à suivre pour récupérer les mouches des pièges sont les suivantes :

- Récupérer les spécimens piégés de *S. damnosum* une fois (à 17h00) ou deux fois (à 12h00 et 17h00) par jour à l'aide d'une pince.
- Placer les simulies dans un récipient en plastique ou un bassin haricot contenant de l'essence minérale incolore ou du kérosène.
- Laisser l'échantillon dans le solvant pendant quelques minutes puis agiter légèrement pour éliminer complètement le Tanglefoot.
- Compter le nombre de simulies piégées et les transférer dans un petit flacon en verre contenant de l'alcool à 80 %.
- Éliminer tous les autres insectes du piège une fois par heure pour en maintenir la propreté, et chaque jour avant de commencer la collecte.

Remarque : Une personne peut gérer efficacement deux ou trois pièges chaque jour.

8.7 Tri et identification des mouches

L'expérience sur le terrain indique que les CV et les pièges EWT capturent souvent d'autres espèces de mouches que *S. damnosum s.l.*. Bien qu'il s'agisse en général d'abeilles sudoripares, d'autres Diptères et certaines espèces de Simuliidae ont été récupérés dans les pièges EWT. Il est donc essentiel de trier et d'identifier correctement les

mouches collectées par les CV et les pièges afin de garantir que seules les femelles de *S. damnosum s.l.* sont soumises à l'analyse par PCR poolée. Les mouches collectées doivent être identifiées au microscope optique (microdissection) en utilisant les clés de détermination appropriées (se reporter au Chapitre 4).

8.8 Renseignement des fiches et formulaires sur le terrain

L'enregistrement précis des activités est indispensable pour assurer l'intégrité des données obtenues sur le terrain. Une formation appropriée des techniciens en entomologie et des CV en matière d'enregistrement sur le terrain doit être dispensée avant le début des activités. Il est souhaitable qu'au moins un des CV soit alphabétisé pour garantir que les formulaires soient correctement renseignés. Des exemples de formulaires utilisés pour consigner les activités entomologiques au Nigéria figurent ci-dessous.

Formulaire 8.1. Fiche de terrain entomologique 1A : Capture sur appât humain

État : District/Province : Village (H/S) :

Site de capture : Code :

Rivière (P/A) :

Nom du captureur A : Nom du captureur B :

Date :

Heures	Nbre de spécimens <i>S. damnosum s.l.</i> et non- <i>S. damnosum</i> collectés*	Remarques, conditions météorologiques
07h00–08h00		
08h00–09h00		
09h00–10h00		
10h00–11h00		
11h00–12h00		
12h00–13h00		
13h00–14h00		
14h00–15h00		
15h00–16h00		
16h00–17h00		
17h00–18h00		
Total pour la journée		

H: village à haut risque; S: village de seconde ligne; P: rivière principale; A: affluent

*À titre de comparaison seulement

Formulaire 8.2. Fiche d'enregistrement des captures par piège à fenêtre Esperanza

État : Zone de gouvernement local : Village (H/S) :
 Site de capture : Code :
 Rivière (P/A) :
 Nom du captureur :
 Date :

Jour/ semaine	Heure de collecte	Nbre de spécimens <i>S. damnosum</i> <i>s.l.</i> et non- <i>S. damnosum</i> collectés*	Remarques, conditions météorologiques
1			
2			
3			
4			
5			
6			

*À titre de comparaison seulement

Formulaire 8.3. Fiche de terrain entomologique récapitulative pour la supervision mensuelle et la récupération des données

État/Province : Zone de transmission :
 Nombre de points de capture : Nbre de pièges :
 Nombre de captureurs sur appât humain :

Mois	Semaine	Nbre de spécimens <i>S. damnosum s.l.</i> collectés			Remarques :
		Appât humain	Pièges	Total	

Nom du coordinateur (état ou province) :

Signature : Date :

Chapitre 9.

Dissection des simulies femelles pour déterminer les taux de parité et d'infectivité

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 9

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre les raisons pour lesquelles on dissèque les *Simulium* spp femelles après la capture ;
- identifier la mouche avant la dissection ;
- disséquer une simulie femelle ;
- déterminer l'âge physiologique des simulies femelles (mouches nullipares et pares) ;
- déterminer l'infectivité des simulies pares infestées par *O. volvulus* (si possible) ; et
- résumer et analyser les résultats des évaluations entomologiques après la dissection.

9.1 Introduction

Ce chapitre décrit des aspects importants de la dissection des simulies femelles pour déterminer la parité et l'infectivité, et se rapporte en particulier aux espèces trouvées en Afrique. En l'absence de PCR, le moyen le plus simple de déterminer les principaux indices de transmission d'*O. volvulus* consiste à disséquer et à analyser l'imago femelle, capturée dans la nature, des espèces vectrices de *Simulium*. Dans le passé, les résultats de la dissection étaient utilisés pour décider des mesures de lutte antivectorielle et évaluer leur avancement.

La dissection de simulies femelles adultes collectées en utilisant une méthode de capture sur appât humain ou un piège (Chapitre 8) permet de déterminer l'âge physiologique des mouches, la possibilité et l'intensité d'infection par *O. volvulus* et, surtout, l'infectivité (les mouches infestées de microfilaires *O. volvulus* au stade L3) au lieu de capture. La dissection indique également si les mouches proviennent de gîtes larvaires locaux ou s'il s'agit d'afflux de mouches migratrices.

9.2 Identification des mouches à disséquer

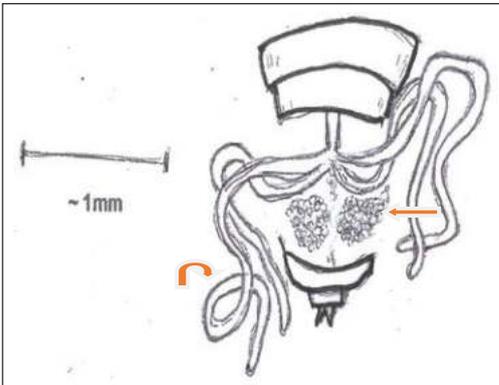
Avant de procéder à la dissection d'une simulie femelle, il faut d'abord s'assurer que la mouche est une espèce vectrice de *Simulium* et qu'il s'agit d'une femelle. Les Chapitres 2 et 4 abordent l'identification des *Simulium* vecteurs et la détermination de leur sexe.

9.3 Dissection des simulies femelles

Les simulies femelles sont disséquées à l'aide d'un microscope optique ou de terrain. Avant la dissection, les mouches sont anesthésiées avec du dioxyde de carbone ou en les plaçant dans un environnement froid, tel qu'un congélateur. Elles peuvent également être immobilisées en les plongeant dans une solution de détergent. Après leur immobilisation, elles peuvent être déposées une par une dans une goutte de sérum physiologique sur une lame de verre.

Après l'examen des caractères morphologiques pour confirmer leur identité, la pointe de l'abdomen est examinée à la recherche d'un spermatophore (Chapitre 2). S'il est présent, la mouche a récemment émergé et n'a pas pris de repas de sang. On utilise ensuite des aiguilles de dissection pour fendre l'extrémité de l'abdomen et en retirer les tubes de Malpighi et les ovaires afin de déterminer la parité (Fig. 9.1).

Figure 9.1. Dissection de la simulie femelle. Les grandes structures courbes sont les tubes de Malpighi (flèche courbe, à gauche) et les structures circulaires sont les ovaires (flèche droite, au centre).



9.4 Âge physiologique des simulies femelles

Les femelles d'insectes hématophages tels que *Simulium* spp pondent leurs œufs par lots, déposant un lot après chaque repas de sang. Il existe ainsi un cycle de développement des œufs dans les ovarioles (les tubes linéaires d'un ovaire d'insecte contenant le follicule ovarien et un ovocyte). Seules les mouches qui ont pris un repas de sang puis pondu au moins un lot d'œufs avant de piquer à nouveau sont susceptibles d'être porteuses du parasite *Onchocerca* spp. Les femelles qui n'ont pas pondu sont nullipares, tandis que celles qui ont pondu au moins un lot d'œufs sont pares ; ces termes se rapportent à l'âge physiologique des mouches femelles. Seules les mouches pares ayant pu attraper des parasites lors de leur premier repas de sang ou des repas suivants peuvent être porteuses d'*O. volvulus*, et celles-ci ne peuvent transmettre le parasite qu'à partir de leur troisième repas de sang (ou ultérieurement) compte tenu de la durée de l'évolution des microfilaires jusqu'au stade infectant (L3). Les caractéristiques des femelles pares et nullipares de *S. damnosum s.l.* sont présentées dans le Tableau 9.1.

Tableau 9.1. Caractères morphologiques des mouches femelles pares et nullipares du complexe *S. damnosum*.

Dissection		
Différences	Femelles nullipares	Femelles pares
Tubes de Malpighi		
	Opagues en lumière transmise	Généralement clairs en lumière transmise

(suite)

Tableau 9.1. (Suite)

Aspect général des ovaires		
	L'ovaire nullipare est généralement clair, avec des follicules plus gros, plus volumineux, plus sphériques et gonflés. Une grande quantité de graisse abdominale est généralement présente.	L'ovaire pare est jaunâtre, d'apparence tachetée à cause des reliques folliculaires. Les follicules sont légèrement plus petits et plus ovales. La graisse abdominale n'est présente qu'occasionnellement.
Étirement des ovaires		
	L'ovaire nullipare ne s'étire que très peu avant de se rompre brusquement.	L'ovaire pare s'étire jusqu'à trois fois sa longueur initiale et se déchire lentement.
Étirement des follicules		
	L'espace sous le follicule est clair dans les ovaires nullipares.	Dans l'ovaire pare, l'espace à côté du follicule contient une relique folliculaire (point sombre).
Remarques	<p>La présence de quelques œufs retenus pleinement développés avec des follicules non développés indique la parité.</p> <p>Il est préférable d'examiner les ovaires dans du sérum physiologique (0,45 %) sous stéréomicroscopie avec une forte lumière provenant du dessous et à un grossissement d'environ 50x.</p>	

Source : référence 54

L'âge physiologique peut être déterminé sans équivoque en examinant les ovaires ou en trouvant des vers d'*Onchocerca* spp en développement (autres que les microfilaries pouvant avoir été prélevées par inadvertance par un collecteur) dans une mouche, tandis que d'autres caractères, tels que les tubes de Malpighi et le corps gras abdominal, fournissent des preuves pouvant appuyer une décision. La dissection permet de séparer l'échantillon de mouches en femelles nullipares et en femelles pares.

9.5 Détermination de l'infectivité des mouches

Une fois l'âge physiologique déterminé, les mouches peuvent être disséquées à l'état frais ou, si l'on manque de temps, conservées dans de l'alcool à 70-80 % à des fins de coloration ultérieure à l'Hematoxyline de Mayer afin de révéler clairement les parasites, comme décrit par Garms et Cheke (76). La technique consiste à séparer les différentes parties du corps de la simule femelle pare (tête, thorax et abdomen), à les isoler puis à dilacérer finement ces organes dans une goutte de sérum physiologique (ou dans de l'acide acétique à 25-50 % avec une goutte de glycérol pour les spécimens colorés) et à les examiner minutieusement pour la présence de larves d'*O. volvulus*. Celles-ci peuvent être réparties dans la tête (L3 ou larves infectantes) (Fig. 9.2), le thorax (stade saucisse L1, L2, L3) et l'abdomen (tous les stades possibles mais généralement L3).

Figure 9.2. Larves au stade infectant (L3) dans la tête de *S. ochraceum*. A. Les flèches noires indiquent une L3 enroulée derrière l'œil composé d'une mouche femelle. B L3 d'*O. volvulus* (flèche) dans les pièces buccales (pointe membraneuse du labrum-épipharynx).



Source : photographies des archives des Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis

Lors de la dissection, il est très difficile de séparer le stade larvaire infectant d'*O. volvulus* des espèces d'origine non humaine comme *O. ochengi* en raison de leurs similitudes morphologiques. La procédure de diagnostic utilisée actuellement pour identifier les larves d'*O. volvulus* dans le but de déterminer l'infectivité des mouches est la PCR, qui présente l'avantage de la spécificité et peut également être utilisée pour estimer le TAP (se reporter au Chapitre 11). Les mouches fixées dans l'acide acétique ne peuvent cependant pas être utilisées pour la PCR en raison des effets de l'acide sur l'ADN du parasite. En outre, l'analyse poolée ne peut pas être utilisée pour déterminer les taux de parité, certaines statistiques comme le nombre de larves infectantes par mouche infectieuse ou le degré d'agrégation des parasites dans les populations de vecteurs. De plus, si l'on utilise uniquement des têtes de simulies pour la PCR au début d'une campagne d'AMM, les taux de transmission basés sur l'analyse poolée peuvent sous-estimer la présence réelle des L3 dans la population vectrice. Néanmoins, la technique de PCR poolée présente l'avantage majeur de distinguer avec précision *O. volvulus* d'autres espèces d'*Onchocerca*.

9.6 Autres parasites parfois trouvés dans les simulies vectrices

D'autres parasites, parfois confondus avec *O. volvulus*, peuvent être rencontrés lors de la dissection des simulies. Outre les larves d'espèce bovine, on peut parfois trouver *O. ochengi*, d'autres espèces d'*Onchocerca* telles qu'*O. ramachandri* et des filaires d'autres helminthes, y compris probablement des parasites d'oiseaux. De plus, les mouches nullipares sont souvent, et les mouches pares très rarement, parasitées par des vers mermithidés qu'un novice pourrait prendre pour des larves d'*Onchocerca*, bien que les mermithidés soient beaucoup plus gros. D'autres organismes qui peuvent paraître curieux à première vue comprennent les ciliés, les larves planidiales d'hyménoptères, les champignons et les acariens ectoparasites fixés aux surfaces externes des simulies.

9.7 Tenue des dossiers de dissection

Il est essentiel de conserver des enregistrements précis de toutes les dissections afin que les indicateurs épidémiologiques critiques puissent être calculés et consignés. Cela est particulièrement vrai pour les données destinées à être utilisées dans un dossier d'élimination à l'échelle nationale. Des critères de transmission stricts ont été établis par l'OMS, et les enregistrements originaux peuvent être contrôlés dans le cadre de la vérification. Les détails requis sont résumés ci-dessous. Compte tenu du grand nombre de mouches devant être collectées et évaluées pour répondre aux critères de vérification de l'OMS, la dissection n'est pas utilisée pour satisfaire la dimension entomologique de ces critères. Elle peut cependant être utile dans le cadre de la surveillance régulière exigée par les lignes directrices, étant entendu que les indices de transmission peuvent être surestimés pour les parasites autres qu'*O. volvulus* qui sont transmis dans la zone d'évaluation.

Exemple de fiche de résultat récapitulative pour une évaluation d'impact entomologique

État : District : Village (H/S) :

Site de capture : Code :

Rivière (P/A) :

Nom du captureur :

Date : Coordonnées GPS :

	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Juin	Juil	Août	Sept	Oct	Nov	Déc	Total
Nbre de jours de capture													
Nbre de mouches capturées													
TMP													
Nbre de mouches disséquées (%)													
Nbre de mouches pares													
% de mouches pares													
Nbre de mouches pares infectées													
Taux d'infection (%)													
Nbre de mouches infectieuses													
Taux d'infectivité des mouches pares (%)													
Nbre total L3 tête													
TMP													
L3 (tête)/1000 mouches pares													
PMT (tête)													

L3 : larves infectantes ; TMP : taux mensuel de piqûres ; PMT : potentiel mensuel de transmission

Chapitre 10.

Préparation des simulies femelles pour l'analyse poolée par PCR (PCR poolée) et interprétation des résultats pour l'élimination de l'onchocercose

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 10

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre le principe de la PCR poolée ;
- préparer les simulies pour la PCR poolée ;
- interpréter les résultats rendus par un logiciel d'analyse poolée ; et
- apprécier l'importance de la PCR poolée pour déterminer l'élimination de l'onchocercose.

10.1 Utilisation de la PCR poolée pour déterminer l'infectivité des simulies

La méthode classique de dissection des imagos pour déterminer l'infection est utilisée depuis des décennies pour comprendre la dynamique de l'infectivité et l'ampleur de la transmission parasitaire par un certain nombre d'espèces vectrices. Cette méthode a été utilisée par l'OMS lors de la création de l'OCP en 1974 afin de déterminer l'étendue de la transmission d'*O. volvulus* et l'impact des traitements larvicides hebdomadaires sur l'infectivité des mouches dans les zones de lutte d'Afrique de l'Ouest (77, 78). La dissection présente cependant deux limites majeures. Premièrement, cette méthode ne peut pas être utilisée pour distinguer *O. ochengi* (un parasite du bétail) d'*O. volvulus*, car ces parasites sont en grande partie impossibles à différencier morphologiquement au microscope optique (79). Ce facteur a d'importantes conséquences pour le calcul des indices de transmission dans une zone de lutte antivectorielle (Chapitre 11). Deuxièmement, après des années de lutte, la méthode exige la dissection de nombreuses simulies par des entomologistes et des techniciens qualifiés afin de détecter le parasite dans les zones où le taux d'infectivité est extrêmement faible. Compte tenu de ces contraintes, les avancées en matière de biologie moléculaire ont été utilisées pour trouver une meilleure méthode d'estimation de l'infectiosité des vecteurs afin d'identifier *O. volvulus* spécifiquement dans le but de calculer la prévalence parasitaire et les indices de transmission (comme le PAT par exemple). Ce travail a conduit au développement d'une technique d'analyse par PCR poolée (le « pool screening ») permettant de tester des lots de mouches.

10.2 Principe de la PCR poolée

La réaction en chaîne par polymérase, ou PCR, implique l'amplification enzymatique (multiplication) d'une séquence d'ADN particulière pour produire des millions de copies de cet ADN. La technique a été développée en 1983 par le Dr Kary Mullis, qui a reçu un prix Nobel pour sa découverte. Le test est basé sur des enzymes appelées ADN polymérase Taq, qui sont extraites de *Thermus aquaticus*, une bactérie thermophile. La méthode est très sensible et ne nécessite que de petites quantités d'ADN pour la détection (80). L'amplification par PCR d'une séquence d'ADN répétitive spécifique d'*Onchocerca* (la séquence O-150) a été réalisée pour la première fois en 1991 (81). La PCR peut ainsi être utilisée pour tester des mouches individuelles ou, plus communément dans le cadre de la PCR poolée, des lots de têtes ou de corps de mouches afin de détecter l'ADN d'*O. volvulus*.

Katholi et coll. (82) ont développé un modèle mathématique pour calculer la prévalence de l'infection dans une population de simulies à l'aide d'un test poolé (effectué sur des lots). Cette technique d'analyse poolée est conçue pour estimer la prévalence d'un facteur dans une population (83). Contrairement à la méthode de dissection traditionnelle qui s'appuie sur l'observation de mouches individuelles, elle permet aux chercheurs de tester des échantillons regroupés en lots. Par exemple, l'analyse poolée par PCR (ou PCR poolée) de la séquence O-150 peut détecter une seule mouche infectée dans des groupes comprenant jusqu'à 200 simulies (84) et a été utilisé pour estimer l'infectivité des vecteurs d'*O. volvulus* et la transmission dans divers foyers impliquant différentes espèces de simulies en Afrique et dans les Amériques (32, 79, 85-90).

10.3 Préparation des simules pour la PCR poolée

10.3.1 Équipement et consommables

- verrerie de différentes tailles ;
- alcool à 95 %, *verre de montre* ;
- tamis en laiton (mailles de 707 microns) ;
- tubes Eppendorf (1,5 ml) ; et
- pinces.

10.3.2 Procédures de préparation des mouches

Le stade infectant d'*O. volvulus* se transmet principalement à partir des larves L3 trouvées dans la tête des vecteurs. Durant la phase initiale de l'AMM avec l'ivermectine (Mectizan®), il a été constaté que l'ADN des larves d'*O. volvulus* pouvait être détecté dans la tête, le thorax et l'abdomen des mouches en utilisant la PCR poolée ; par conséquent, dans les premiers protocoles, les têtes et les autres parties du corps étaient testées séparément. À mesure que l'AMM s'est répandue, réduisant ainsi la présence de microfilaires dans les zones de transmission, il est cependant devenu évident qu'il n'était pas nécessaire de tester toutes les parties du corps de la simule. Par conséquent, pour économiser du temps et des ressources de laboratoire, de nombreux programmes de lutte établis progressant vers l'élimination ne testent désormais que les têtes de vecteurs, et les données sur les têtes uniquement sont utilisées pour calculer les indices de transmission, comme le stipulent les lignes directrices de l'OMS (27). Les têtes doivent donc être séparées du corps avant l'analyse par PCR.

Le protocole est le suivant :

1. Utiliser des mouches conservées dans de l'isopropanol ou de l'éthanol. Rincer les mouches dans de l'éthanol à 95 % et les verser dans un récipient en plastique ou sur du papier de pesée. Laisser l'éthanol s'évaporer jusqu'à ce que les mouches semblent sèches.
2. Diviser les mouches en pools (lots). Ne pas mélanger des mouches provenant de différents gîtes larvaires dans un même pool. Chaque pool peut contenir jusqu'à 200 mouches, bien que la PCR puisse être difficile lorsque plus de 100 mouches sont incluses dans un pool (se reporter à la section sur l'extraction de l'ADN). Ne pas laisser les mouches se dessécher complètement, sans quoi la purification des extraits d'ADN à partir des têtes ne réussira pas.
3. Placer les mouches d'un pool dans un tube à centrifuger conique en polypropylène de 15 ml, propre et sec.
4. Placer les tubes à -80 °C ou sur glace carbonique pendant une nuit ou dans de l'azote liquide en phase vapeur pendant 30 minutes.
5. Placer des tubes individuels contenant des mouches congelées dans les doigts d'un gant en latex ordinaire. Cinq tubes peuvent être placés dans un gant (un par doigt). Détacher la tête des mouches en tenant le poignet du gant et en frappant les doigts contre une paillasse. Pour éviter que les tubes ne se fissurent, placer un coussin en mousse (comme un vieux tapis de souris d'ordinateur) sur la surface du banc.
6. Extraire les mouches des tubes en les remettant en suspension dans de l'éthanol à 95 % et en les retirant avec une pipette à large diamètre, comme une pipette de transfert en plastique. La quantité d'éthanol n'est pas importante ; l'essentiel est de récupérer autant de matériel que possible.

7. Verser l'éthanol contenant les mouches à travers un tamis de 707 microns fixé à un bac de récupération (Fig. 10.1A, B). Les corps seront collectés à la surface du tamis (Fig. 10.2A) tandis que les têtes passeront à travers et seront récupérées dans le bac (Fig. 10.2B). Rincer les mouches récupérées sur le tamis pour s'assurer que toutes les têtes sont passées au travers.
8. Récupérer les têtes de mouches dans le bac avec l'éthanol (Fig. 10.2). Déposer les têtes dans une coupelle de pesée et retirer autant d'alcool que possible, puis les laisser sécher à température ambiante.
9. Les corps peuvent être éliminés ou conservés dans de l'éthanol à 4 °C si des travaux supplémentaires sont prévus.

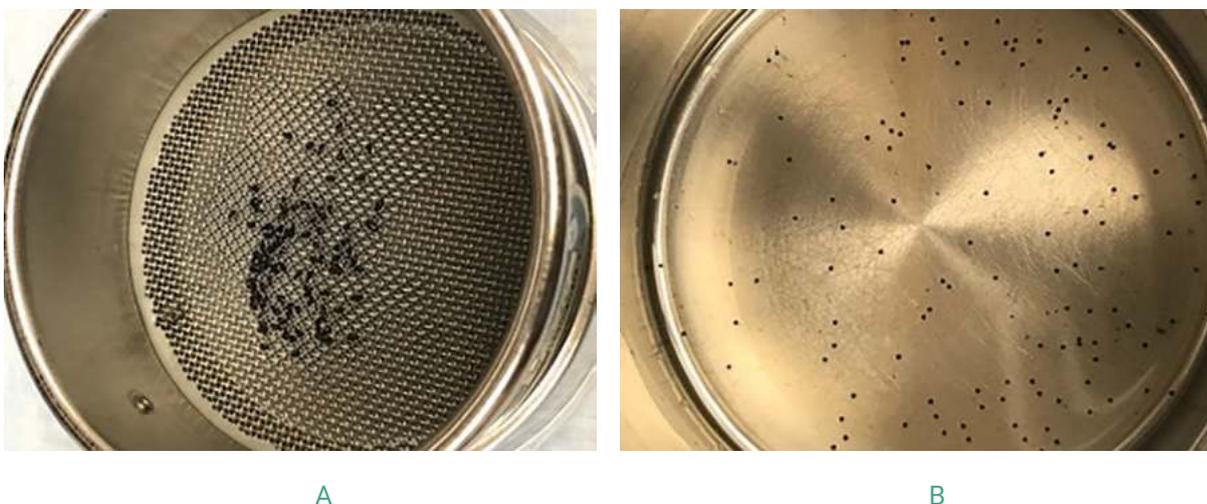
Ce protocole a été conçu pour séparer efficacement les têtes et les corps de *S. damnosum s.l.*. D'autres espèces vectrices peuvent être plus grandes ou plus petites et nécessiter l'utilisation de tamis ayant différents micronages.

Figure 10. 1. A. Tamis de 707 microns (flèche rouge) placé sur un bac de récupération. B. Bac de récupération.



Source : photographies de H. Hassan, École de santé publique de l'Université de Floride du Sud

Figure 10.2. A. Corps de mouches sur un tamis de 707 microns. B. Têtes de mouches (points noirs) récupérées dans le bac.



Source : photographies de H. Hassan, École de santé publique de l'Université de Floride du Sud

10.4 Extraction de l'ADN et analyse poolée

Pour ce test, il faut disposer d'un laboratoire de biologie moléculaire standard et de personnel qualifié. Les têtes de simules contiennent de grandes quantités de composés qui inhibent les réactions de PCR et sont souvent co-purifiées avec l'ADN extrait des têtes. Il est donc important de choisir et de valider soigneusement la méthode d'extraction de l'ADN qui sera utilisée. Les méthodes de purification de l'ADN à base de silice, qu'il s'agisse de techniques élaborées sur place (85) ou de kits d'extraction d'ADN disponibles dans le commerce, sont toutes acceptables pour les têtes de simules. La capture par des billes magnétiques de l'ADN parasite à partir d'homogénats de têtes de mouches s'est également révélée efficace (84). Toutefois, les différentes méthodes de purification varient en termes de leur capacité à éliminer les inhibiteurs. Il faut donc entreprendre des expériences de mélange préliminaires quelle que soit la méthode choisie afin de déterminer le nombre maximum de têtes pouvant être traitées dans un seul pool sans inhiber la PCR ultérieure. D'une manière générale, on peut regrouper dans un pool jusqu'à 100 têtes de mouches.

Amplification et détection d'O-150 par PCR

Les lignes directrices actuelles de l'OMS recommandent l'utilisation de tests PCR pour la détection d'O-150, une séquence d'ADN répétée en tandem présente dans le génome des parasites *Onchocerca*. Plusieurs protocoles pour la PCR poolée des simules qui ciblent cette séquence ont été publiés, notamment par Katholi et coll. (82), Fischer et coll. (91), Guevera et coll. (86), Adeleke et coll. (87), Gopal et coll. (84) et Rodríguez-Pérez et coll. (69). La technologie la plus couramment utilisée pour détecter la séquence O-150 est l'immuno-PCR (qui combine la méthode immuno-enzymatique ELISA et la PCR) (92), dans laquelle les amplicons de la PCR issus de la répétition d'O-150 sont détectés par hybridation avec la sonde oligonucléotidique OVS2 spécifique d'*O. volvulus* (93). Plus récemment, plusieurs méthodes de PCR isothermes (isoPCR) et en temps réel ont été signalées comme étant capables de détecter l'ADN O-150 (94-97). N'importe lequel de ces tests peut être adapté pour détecter la présence d'ADN d'*O. volvulus* dans les têtes de simules vectrices, bien qu'en se faisant, leur capacité à distinguer *O. volvulus* d'autres espèces sympatriques d'*Onchocerca*, comme *O. ochengi*, doit être démontrée. Alternativement, les pools positifs peuvent être testés à nouveau en utilisant une méthode qui identifie sans ambiguïté *O. volvulus* afin de confirmer que les pools positifs contiennent effectivement cette espèce, comme par exemple l'amplification de parties du génome mitochondrial du parasite, suivie de la confirmation de la séquence d'ADN de l'amplicon (98).

10.5 Interprétation des résultats de l'analyse poolée à l'aide d'un logiciel spécialisé

La prévalence de l'infection dans les pools de têtes de mouches est habituellement déterminée à l'aide d'un logiciel d'analyse poolée. Ce logiciel est un programme informatique de « pool screening » développé par Katholi et coll. (82), et une version modifiée par Katholi en 2010 est disponible auprès de l'OMS sur demande. Il fournit une valeur estimée de la prévalence de l'infection avec des intervalles de confiance (IC) à 95 % pour l'estimation en fonction de la taille du pool, du nombre de pools examinés et du nombre de pools positifs (79,84). Le logiciel peut également donner une estimation du PAT pour la population de vecteurs examinée si des données de collecte détaillées sont disponibles. Il est facile à utiliser et n'exige qu'une formation minimale.

Le logiciel d'analyse poolée rend habituellement trois estimations de la prévalence ponctuelle des mouches porteuses de larves d'*O. volvulus* au stade L3 : le maximum de vraisemblance, la méthode des moments et

la méthode de Bayes a posteriori, ainsi que quatre estimations des IC à 95 % correspondants : rapport de vraisemblance, Clopper-Pearson, normale asymptotique et crédibilité bayésienne. Les simulations indiquent que la méthode du maximum de vraisemblance est la plus précise pour calculer les estimations ponctuelles, tandis que l'intervalle de crédibilité bayésienne est l'estimation la plus précise de l'IC à 95 %. Ces valeurs doivent être consignées et notifiées.

Remarques :

- Pour la PCR poolée des simules femelles, il faut en général analyser au moins 6000 mouches par zone de transmission selon les critères d'élimination de l'OMS.
- Dans une zone de transmission n'ayant pas permis de collecter 6000 mouches après 12 mois, le PAT ou le potentiel de transmission saisonnier généré par le logiciel d'analyse poolée peut être utilisé.
- Pour qu'un foyer réponde aux critères d'élimination, les lignes directrices de l'OMS stipulent que la limite supérieure de l'IC à 95 % pour la prévalence des mouches porteuses de larves infectantes (L3) dans la tête doit être inférieure à 0,1 % ($< 1/1000$) pour les mouches pares ou inférieure à 0,05 % ($< 1/2000$) pour toutes les mouches (en supposant un taux de parité de 50 %) (26).

Pour le PAT, il est nécessaire d'obtenir des valeurs de moins de 20 larves L3/personne et par an, avec un IC à 95 %, pour satisfaire aux critères d'interruption de la transmission (27).

Par exemple, supposons que des évaluations entomologiques ont été menées dans deux foyers de transmission pour déterminer l'état actuel de la transmission d'*O. volvulus* après 12 ans de traitements répétés à l'ivermectine. Des échantillons de simules ont été collectés et analysés en utilisant la méthode de PCR poolée. Le résultat rendu par le logiciel d'analyse poolée est présenté dans le Tableau 10.1.

Tableau 10.1. Exemples de la prévalence calculée d'*O. volvulus* dans les pools de têtes de simules provenant de deux zones de transmission.

Zone de transmission	Nbre de mouches analysées dans le pool	Nbre de pools	Nbre de pools positifs pour <i>O. volvulus</i>	Prévalence ^a (% positif)	Intervalle de confiance (% positif) ^b
Owawde	9001	90	0	0,00	0,00 ; 0,02
Akutipal	7000	70	9	0,14	0,06 ; 0,2

^a Prévalence estimée selon le maximum de vraisemblance

^b Intervalle de crédibilité bayésienne

Le Tableau 10.1 montre que la limite supérieure de l'intervalle de prévalence (avec un IC à 95 %) est inférieure à 0,05 % à Owawde mais supérieure à 0,05 % à Akutipal. On peut donc conclure que la transmission d'*O. volvulus* a été interrompue à Owawde (à condition que la zone de transmission réponde également aux critères sérologiques de l'OMS pour arrêter l'AMM), tandis que la transmission du parasite se poursuit à Akutipal.

Chapitre 11.

Détermination et interprétation des indices de transmission dans l'élimination de l'onchocercose

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 11

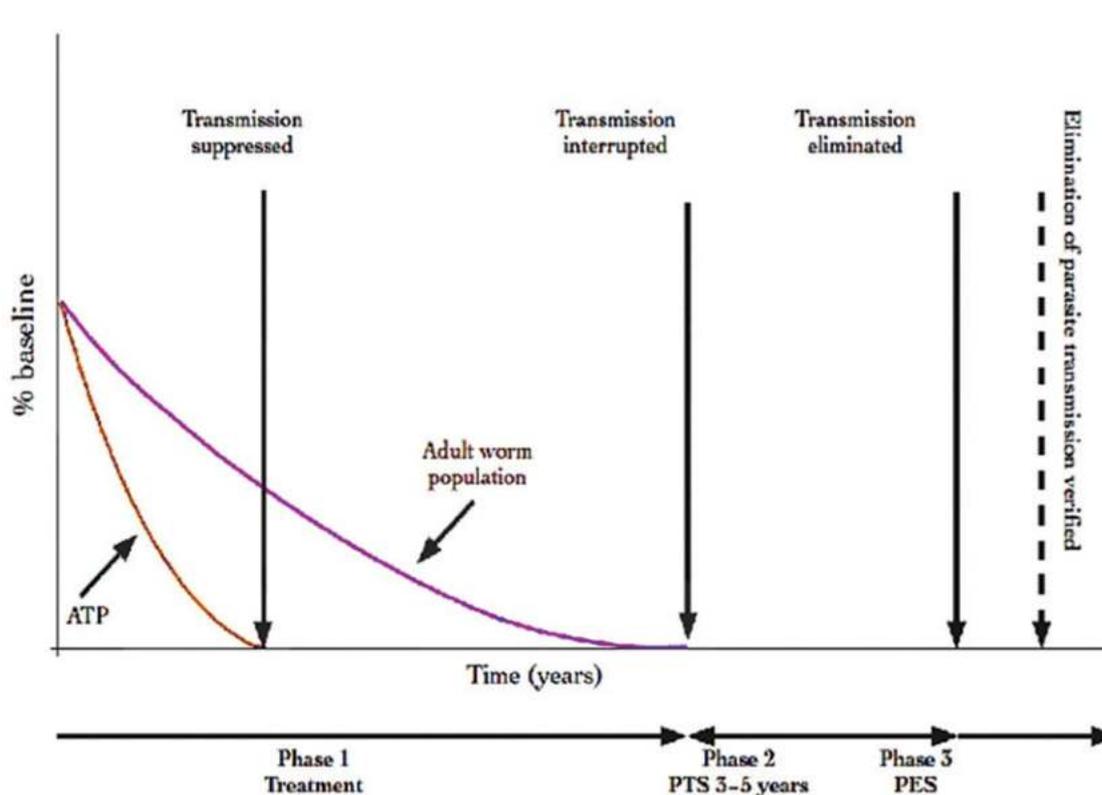
À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- comprendre le processus de vérification de l'élimination de l'onchocercose ;
- calculer les taux de piqûres et le potentiel de transmission des simulies dans un foyer, y compris le TMP et le TAP, le PMT et le PAT, le taux mensuel de piqûres infectieuses et le nombre de larves infectantes chez les mouches pares ; et
- interpréter les indices de transmission dans le cadre de l'élimination de l'onchocercose.

11.1 Élimination de l'onchocercose

L'élimination de l'onchocercose se déroule en trois phases (27) (Fig. 11.1).

Figure 11.1. Séquence temporelle des résultats de l'AMM pour l'élimination d'*O. volvulus*. La réduction du PAT entraîne l'élimination de nouvelles infections, suivie de la disparition de la population de vers adultes en raison des effets des médicaments et de la sénescence.



ATP, annual transmission potential ; PES, post-elimination surveillance ; PTS, post-treatment surveillance

11.1.1 Phase 1

La première phase, dite d'intervention ou de traitement, se caractérise par une AMM continue à l'ivermectine avec une couverture thérapeutique minimale de 65 % de la population totale ou de 80 % des personnes éligibles pour recevoir le traitement, et une couverture géographique de 100 % sur une période de 12 à 15 ans ou plus (Fig. 11.1). L'AMM diminue la charge microfilarienne dans la peau, réduisant ainsi le PAT à un niveau si bas qu'il est impossible de maintenir la population parasitaire (Fig. 11.1, ligne jaune), et la population de vers adultes subit au fil du temps une sénescence complète (Fig. 11.1, ligne violette) (99). Le temps nécessaire pour achever la phase 1 dépendra de la couverture atteinte, de la fréquence de l'AMM (une, deux fois par an ou plus), des caractéristiques initiales de transmission, de la capacité vectorielle et, le cas échéant, des mesures de lutte antivectorielle. À la fin de cette phase, des évaluations entomologiques et sérologiques doivent être réalisées pour démontrer l'interruption de la transmission.

11.1.2 Phase 2

Cette phase de surveillance post-traitement commence une fois que l'interruption de la transmission a été démontrée selon les critères de l'OMS. Toutes les interventions de lutte (p. ex., AMM à l'ivermectine et lutte anti-vectorielle) sont arrêtées pour démontrer que le traitement a réussi. Cette phase dure généralement de 3 à 5 ans. À l'issue de cette période, des évaluations entomologiques sont menées pour démontrer l'élimination de la transmission.

11.1.3 Phase 3

Il s'agit de la phase de surveillance post-élimination suit la confirmation que la transmission a été éliminée. Cette surveillance est nécessaire pour apporter des preuves statistiques convaincantes de l'interruption définitive de la transmission d'*O. volvulus* et de l'éradication de la population parasitaire. Lorsque tous les domaines programmatiques d'un pays passent à la phase 3, le ministère de la Santé peut demander une vérification de l'élimination par l'OMS. Les activités de la phase post-élimination doivent se poursuivre jusqu'à ce que l'élimination régionale ait été confirmée.

À ce jour, les phases 2 et 3 reposent principalement sur l'évaluation entomologique annuelle. Les populations de mouches se nourrissant d'hôtes humains dans une zone géographique relativement vaste, elles sont le premier indicateur d'une recrudescence de la transmission.

11.2 Indices de transmission utilisés avant la PCR

La notion de quantification de la transmission d'*O. volvulus* a été introduite par le Dr Brian Duke lors des premières études menées au Cameroun (p. ex., 100). Des indicateurs comme le TMP ou le TAP, et le PMT ou le PAT des parasites au stade larvaire L3 ont servi de base pour calculer les taux d'infection des vecteurs, en les associant aux taux de maladie dans la population humaine (101) et, plus tard, pour évaluer l'efficacité des programmes de lutte. Par exemple, les taux de piqûres et les potentiels de transmission étaient les deux indices utilisés pour évaluer les progrès de l'OCP (102, 103).

Pour établir une norme annuelle, les taux de piqûres sont utilisés pour calculer le PAT, un critère épidémiologique important dans le domaine de l'onchocercose. Les formules sont présentées ci-dessous.

11.2.1 Taux mensuel de piqûres (TMP) et taux annuel de piqûres (TAP)

Le TMP est une estimation générale du nombre de piqûres qu'une personne exposée à une population vectorielle de *Simulium* recevra dans un mois. Il s'agit probablement d'une surestimation, car toutes les mouches qui se posent sur une personne ne réussissent pas à prendre un repas de sang. Le TMP est calculé comme suit, à partir des données obtenues lors des captures sur appât humain (voir le Chapitre 8) :

$$\text{TMP} = \frac{\text{Moyenne géométrique du nbre de simulies capturées/jour/personne} \times \text{Nbre de jours dans le mois}}{\text{Nbre de jours de capture}}$$

Le TAP est une estimation générale du nombre de piqûres qu'une personne exposée à une population vectorielle de *Simulium* recevra dans une année. Le TAP est calculé comme suit, à partir des données obtenues lors des captures sur appât humain :

$$\text{TAP} = \frac{\text{Nbre de simules capturées} \times \text{Nbre de jours dans l'année}}{\text{Nbre de jours de capture}}$$

Les taux de piqûres étaient d'une importance significative dans les programmes de lutte antérieurs et le restent pour l'évaluation des indices d'élimination de l'onchocercose. Dans le passé, de nombreuses communautés en Afrique ont été abandonnées en raison d'une activité de piqûres intense des simules (voir le Chapitre 1); cependant, lors des activités de lutte antivectorielle de l'OCP, un TAP de moins de 1000 piqûres par personne en zone de savane a été jugé acceptable pour le repeuplement de zones précédemment abandonnées (104).

11.2.2 Potentiel mensuel de transmission (PMT) et potentiel annuel de transmission (PAT)

Le PMT est une estimation du nombre de larves infectantes (L3) d'*O. volvulus* transmises à un hôte si cette personne est exposée continuellement à la population locale de simules pendant un mois. Le PMT pour les larves de la tête uniquement (T) est calculé comme suit :

$$\text{PMT(T)} = \frac{\text{TMP} \times \text{Nbre de simules porteuses de larves L3 dans la tête}}{\text{Nbre de simules disséquées mensuellement}}$$

Une autre version de la formule pour le PMT incluant les larves L3 dans la tête, le thorax et l'abdomen (A) était utilisée avant le début des programmes utilisant l'AMM, lorsque les simules étaient disséquées (voir le Chapitre 8) et que la PCR poolée d'*O. volvulus* n'était pas encore disponible :

$$\text{PMT(A)} = \frac{\text{TMP} \times \text{Nbre de toutes les larves L3}}{\text{Nbre de simules examinées}}$$

Dans une étude visant à déterminer le nombre de larves L3 d'*O. volvulus* s'échappant des femelles infectieuses de *S. damnosum* (une cyto-espèce forestière) pendant l'alimentation en sang, Duke (105) a estimé que la plus grande proportion de larves infectantes s'échappaient de la tête de la simule et que les femelles fortement infectées excrétaient la plupart de leurs larves infectantes lorsqu'elles prenaient un repas de sang. Ces découvertes suggèrent que les L3 qui restent dans l'abdomen sont peut-être poussées de force dans la tête de la mouche en raison de la pression occasionnée par le repas de sang lorsque l'intestin moyen se remplit. On a supposé que les L3 dans le thorax venaient juste de muer à ce stade et ne pouvaient donc pas être transmises. Par conséquent, le décompte de toutes les L3 dans le corps de la simule produit probablement une surestimation du potentiel de transmission.

Le PAT est une estimation du nombre de larves infectantes (L3) d'*O. volvulus* transmises à un hôte si cette personne est exposée à une population de *Simulium* vecteurs pendant une année. Le PAT est calculé comme suit :

$$\text{PAT(T)} = \frac{\text{TAP} \times \text{Nbre de simules porteuses de larves L3 dans la tête}}{\text{Nbre de simules disséquées annuellement}}$$

$$\text{PAT(A)} = \frac{\text{TAP} \times \text{Nbre de toutes les larves L3}}{\text{Nbre de simules disséquées annuellement}}$$

Les PMT peuvent être additionnés pour déterminer le PAT.

Le PMT et le PAT peuvent également être calculés lorsque la PCR poolée réalisée sur les têtes de simulies est utilisée pour déterminer l'infectivité :

$$\text{PMT} = \text{TMP} \times \text{Proportion de simulies infectieuses, déterminée par analyse poolée}$$

$$\text{PAT} = \text{TAP} \times \text{Proportion de simulies infectieuses, déterminée par analyse poolée}$$

Ces indices reposent sur l'hypothèse que toutes les simulies sont examinées soit par dissection, soit par PCR et peuvent devoir être ajustés si seulement un sous-échantillon de simulies capturées est examiné.

Le PMT et le PAT, qui sont des estimations relatives, sont les indicateurs standards de l'intensité de la transmission parasitaire. Dans le cadre de l'OCP, un PAT de 100 a été accepté comme limite tolérable en zone de savane (106), cette valeur étant inférieure au seuil de PAT associé à l'apparition de la cécité. Le parasite demeure néanmoins endémique dans de nombreuses zones de la région de lutte antivectorielle. Les lignes directrices actuelles de l'OMS acceptent un PAT de moins de 20 L3/personne comme indicateur de l'interruption de la transmission quand le nombre de simulies pouvant être capturées pour une enquête entomologique est inférieur à 6000.

Il faut noter que le logiciel d'analyse par PCR poolée pour la détection d'*O. volvulus* est capable de calculer à la fois le potentiel saisonnier de transmission et le PAT, avec les IC à 95 % pertinents. Se reporter à la section 10.5.

11.2.3 Taux mensuel de piqûres de femelles pares

Comme nous l'avons vu au Chapitre 9, la population vectorielle de *Simulium* spp est composée de femelles nullipares et pares. Sur le plan épidémiologique, la proportion pare est la plus importante, les simulies de ce groupe ayant déjà pris un repas de sang et étant potentiellement infectées par *O. volvulus*. Pour déterminer le nombre réel de simulies infectieuses dans une population, seules les femelles pares doivent être évaluées. Cela nécessite souvent l'examen d'une population à un certain moment de la journée (les femelles pares de *S. damnosum s.l.* recherchent souvent leurs hôtes plus activement le matin) et dans des lieux définis (habituellement à proximité de gîtes larvaires riverains) (5, 107).

Le taux mensuel de piqûres de femelles pares est désormais largement utilisé, surtout à proximité des gîtes larvaires étendus où l'on peut s'attendre à ce qu'une proportion importante de simulies piqueuses soient des femelles nullipares qui viennent d'émerger, et dans les zones de réinvasion où la proportion de pares peut être inhabituellement élevée.

$$\text{Taux mensuel de piqûres} = \frac{\text{Nbre de femelles pares} \times \text{Nbre de jours dans le mois}}{\text{Nbre de jours de capture}}$$

Le taux mensuel de piqûres de femelles pares peut être utilisé pour ajuster le PAT et le PMT afin que ces chiffres s'appliquent spécifiquement aux pares.

11.2.4 Nombre de larves infectantes pour 1000 femelles pares

Cet indice désigne l'efficacité de la transmission de larves L3 d'*O. volvulus*, spécifiquement par la population pare, et n'est pas affecté par le nombre total d'individus dans la population.

$$\text{L3/1000 pares} = \frac{\text{Nbre de larves L3 récupérées (de la tête) dans l'échantillon} \times 1000}{\text{Nbre de femelles pares dans l'échantillon}}$$

11.3 Indices de transmission des simulies dans le cadre de l'élimination de l'onchocercose

La surveillance entomologique est menée pour déterminer les changements dans la répartition et la densité des vecteurs ainsi que leur taux d'infection. Au début d'un programme, ces indices reflètent l'endémicité de l'onchocercose, c'est-à-dire que le PAT est plus élevé dans les zones où la maladie est hyperendémique que dans les zones de mésoendémie et d'hypoendémie. Le suivi de ces indices dans le temps permet à l'entomologiste d'évaluer l'impact des interventions et de recommander des modifications pour un programme.

Dans de nombreux contextes le niveau de transmission parasitaire dans le temps n'est pas déterminé ; cependant, tous les programmes d'élimination doivent inclure la mesure de l'infectivité afin de justifier l'arrêt de l'AMM et de démontrer la réussite de la surveillance post-traitement (Fig. 11.1). Les lignes directrices actuelles de l'OMS pour l'arrêt du traitement médicamenteux et pour la vérification de l'élimination de l'onchocercose humaine exigent l'analyse d'au moins 6000 mouches dans une zone de transmission pour démontrer que la limite supérieure de l'IC à 95 % pour la prévalence des mouches porteuses de larves L3 infectantes dans la tête est inférieure à 0,1 % (c.-à-d. moins d'une mouche infectieuse/1000 mouches) chez les mouches pares ou inférieure à 0,05 % (c.-à-d. moins d'une mouche infectieuse/2000 mouches) dans toutes les mouches (en supposant un taux de parité de 50 %) (27). L'infectivité est déterminée en effectuant un test PCR pour la détection d'O-150 sur les têtes des mouches capturées et en analysant les résultats à l'aide d'un logiciel d'analyse poolée. S'il est impossible de capturer le nombre minimum de mouches avec suffisamment d'effort, une option acceptable consiste à démontrer que la limite supérieure de l'IC à 95 % du PAT estimé est inférieur à 20 L3/personne et par an.

Par le passé, la méthode permettant de déterminer la prévalence des simulies porteuses de larves infectieuses d'*O. volvulus* était la dissection sur le terrain, qui présentait cependant plusieurs inconvénients.

- La dissection des simulies femelles est coûteuse, car c'est une technique chronophage qui nécessite un entomologiste qualifié et un microscope de terrain.
- *S. damnosum s.l.*, la principale espèce vectrice d'*O. volvulus* en Afrique, peut également être le vecteur de plusieurs espèces zoonotiques d'*Onchocerca* (108). Il est impossible de distinguer morphologiquement les L3 de plusieurs de ces espèces de celles d'*O. volvulus*, et leur inclusion dans les fiches de dissection produit des estimations de la transmission faussement élevées.

Pour cette raison, la dissection n'est pas utilisée lorsqu'il s'agit de répondre aux critères de l'OMS précisés dans les lignes directrices de 2016 (27). La dissection peut être utile pour des enquêtes rapides au cours de la surveillance longitudinale et pour déterminer les taux de parité et de piqûres des femelles pares.

La collecte d'un nombre minimal de 6000 mouches s'est avérée un défi dans certaines localités. Les programmes ont tenté de surmonter ce problème en augmentant le nombre de jours de collecte et en collectant les mouches pendant une année supplémentaire (vu qu'il peut y avoir une variation dans la productivité des gîtes larvaires d'une année à l'autre). L'utilisation du piège à fenêtre Esperanza (se reporter au Chapitre 8) peut augmenter le rendement des captures de mouches.

Chapitre 12.

Lutte contre les simulies dans les programmes d'élimination de l'onchocercose

Objectifs d'apprentissage pour le Chapitre 12

À la fin de ce chapitre, le lecteur devrait être en mesure de :

- apprécier le contexte historique de la lutte antivectorielle en tant que stratégie d'élimination de l'onchocercose ;
- déterminer les informations requises pour choisir une stratégie de lutte antivectorielle bien adaptée contre les simulies ;
- comprendre les caractéristiques des principaux insecticides et larvicides disponibles ;
- comprendre la méthode générale de traitement larvicide, en particulier le traitement au sol ;
- comprendre la gestion de la résistance aux larvicides ; et
- comprendre les fondements et l'impact potentiel des méthodes communautaires de lutte antivectorielle.

12.1 Introduction

12.1.1 Perspective historique

Plusieurs continents ont mis en œuvre des programmes de lutte contre les simuliés à grande échelle utilisant des larvicides. Deux programmes initiaux ont été menés au Canada et au Kenya après l'identification du DDT comme larvicide efficace et peu coûteux par Fairchild et Barreda en 1945 (109). Des programmes ont été organisés dans la province de Saskatchewan, au Canada, pour contrôler *S. arcticum* et au Kenya pour éliminer la transmission d'*O. volvulus* par *S. neavei*. Le programme canadien, lancé en 1948, prévoyait au départ l'épandage aérien de DDT (110), alors qu'au Kenya, les traitements larvicides ont été effectués par épandage de DDT au goutte à goutte dans les rivières et les ruisseaux après une cartographie approfondie de la répartition des vecteurs (111). L'élimination de *S. neavei* s'étant déroulée sur une période de 9 ans (112), des données précieuses sur la durée de vie moyenne de l'imago femelle d'*O. volvulus* ont été obtenues et ont servi de référence pour le calendrier du programme plus étendu de l'OCP en Afrique de l'Ouest (Chapitre 1).

Figure 12.1. A. Épandage aérien de téméphos comme larvicide dans une rivière d'Afrique de l'Ouest. B. Déplacement du larvicide en aval de la rivière, formant un large front à mesure de sa dispersion.



A

B

Source : photographies de E. Cupp

Pendant environ deux décennies (1974-1990), l'OCP s'est appuyé exclusivement sur des pulvérisations aériennes prolongées et régulières de larvicides non nuisibles à l'environnement au niveau des gîtes larvaires de *S. damnosum s.l.* (Fig. 12.1). Il s'agit de l'un des programmes de lutte antivectorielle les plus productifs en termes d'impact sur la santé et le développement économique locaux ; cependant, malgré ses avantages, les coûts élevés associés à l'épandage aérien ont limité son application et sa durabilité dans d'autres régions.

Avec l'avènement du Mectizan® (ivermectine) en 1987 en tant que nouvelle stratégie pour combattre la maladie, la lutte antivectorielle est devenue secondaire pour contenir la cécité des rivières. L'utilisation de l'ivermectine dans le cadre d'une campagne d'AMM était une stratégie durable qui a permis d'atteindre des résultats significatifs en Afrique et dans les Amériques (Chapitre 1). Malgré le succès global des AMM menées avec l'ivermectine, des modèles épidémiologiques récents suggèrent que l'élimination d'*O. volvulus* en Afrique au cours de la prochaine décennie sera difficile dans les zones où le parasite est fortement endémique ou l'a été auparavant (28). Les interventions visant à interrompre la transmission dans ces zones comprendront probablement une AMM répétée plusieurs fois par an ainsi que des mesures de lutte antivectorielle. Lakwo et coll. (113) ont noté

que l'interruption de la transmission était accélérée quand la lutte antivectorielle était utilisée comme stratégie d'intervention complémentaire. Avant cela, Garms et coll. (63) ont observé en Ouganda que l'application de larvicides au sol par un personnel local bien formé dans les communautés affectées était une stratégie réalisable et plus abordable que l'épandage aérien ; en outre, cette pratique pourrait renforcer les capacités dans les pays d'endémie et accélérer l'élimination de la maladie.

12.1.2 Objectifs du chapitre

Le Chapitre 12 est conçu pour servir de guide aux pays d'endémie dans le cadre d'une lutte antivectorielle sans danger pour l'environnement, lorsque cela est possible, comme mesure supplémentaire ou complémentaire pour rompre le contact entre l'humain et le vecteur et accélérer l'élimination de l'onchocercose. Selon les anciennes lignes directrices de l'OCP (65), l'application de larvicides au sol est recommandée pour traiter les gîtes larvaires potentiels de *Simulium* spp avec des insecticides qui ont passé avec succès une évaluation de sécurité et sont préqualifiés par l'OMS. Peu avant sa fermeture, l'APOC a publié un guide sur la lutte antivectorielle en tant que complément du traitement à l'ivermectine sous directives communautaires (TIDC), qui examine quand et comment mettre en œuvre une stratégie de lutte antivectorielle. Le guide suggère que la lutte antivectorielle peut être nécessaire dans les zones d'hyperendémie, celles dans lesquelles un programme d'AMM n'a pas donné de résultats, et dans les zones non éligibles à l'AMM car la loase y est co-endémique (114). Pour éviter toute répétition et appliquer les meilleures pratiques recommandées par l'OCP, des parties du Chapitre 12 sont adaptées du module l'OCP destiné à former les entomologistes nationaux à la gestion et la supervision des activités entomologiques dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose (65) et du guide de l'APOC intitulé *Guide for decision making and implementation of vector control as alternative treatment strategies for elimination of onchocerciasis* (114).

12.2 Informations décisionnelles pour la mise en œuvre et les objectifs de la lutte antivectorielle

Les informations de base sur la planification et la mise en œuvre de la lutte antivectorielle sont en grande partie disponibles dans le manuel précédent (2015) (114) et ne sont examinées que brièvement ici. Les informations requises sont les suivantes.

Cartographie des rivières et des gîtes larvaires potentiels pendant une période minimale de 2 ans sur le lieu du projet (Chapitre 5) : Des cartes des systèmes fluviaux et des gîtes larvaires potentiels doivent être obtenues pour permettre à l'équipe d'évaluer l'ensemble du réseau hydrologique et la faisabilité de la lutte antivectorielle dans la zone ciblée.

Impact de la saisonnalité sur les gîtes larvaires et la source des mouches (Chapitre 3) : Les données portant sur les variations saisonnières des régimes pluviométriques dans le pays et sur le lieu du projet doivent être examinées. La relation entre les variations saisonnières des précipitations et la productivité des gîtes larvaires de vecteurs doit être établie.

Caractérisation des espèces *Simulium* dans une zone de transmission (Chapitre 7) : Il est impératif de savoir quelles espèces vectrices sont présentes dans les zones d'intervention. Le complexe et le groupe d'espèces *Simulium* doivent être bien caractérisés et les espèces déterminées (voir le Chapitre 4). Dans les zones déjà traitées avec des larvicides, le fait de connaître le taux d'infectivité par *O. volvulus* dans les populations de simulies locales permet de mieux cibler les gîtes larvaires à traiter, en particulier si le manque de ressources empêche de traiter tous les gîtes potentiels.

12.3 Informations de référence sur l'utilisation des larvicides

Une fois qu'un bassin versant a été cartographié et qu'il est temps de lancer la lutte antivectorielle, un essai doit être entrepris pour vérifier la portée et l'efficacité du larvicide appliqué. La portée correspond à la distance, en aval du point d'application, sur laquelle toutes les larves de *Simulium* sont tuées. Elle peut être mesurée en échantillonnant des supports aquatiques à des distances régulières du point d'application jusqu'au point où l'insecticide s'est dilué et ne tue plus les larves. L'efficacité est déterminée en calculant la dose de larvicide la plus faible à laquelle 100 % des larves de *Simulium* sont tuées. Cette valeur peut dépendre de la formulation du larvicide (voir la section 12.5).

12.4 Prérequis pour une lutte antivectorielle réussie

12.4.1 Mise en place d'un programme de lutte antivectorielle

Pour assurer la planification et la mise en œuvre correcte des activités de lutte antivectorielle, le programme doit relever du service approprié au sein du ministère de la santé, qui pourrait être un département consacré à la lutte contre les MTN ou la lutte antivectorielle. Une fois l'intégration structurelle établie, les activités peuvent être planifiées à l'échelle nationale, régionale et/ou du district. Les pays peuvent utiliser une structure existante adaptée pour coordonner les activités de lutte antivectorielle sans nécessairement en créer une nouvelle.

Pour garantir l'acceptabilité d'un tel programme, il faut informer les communautés des activités et de l'importance de la lutte antivectorielle afin d'obtenir leur participation. Cela permettra de mettre en place des dépôts d'insecticides sécurisés et de recruter des résidents locaux pour les équipes de prospection et de capture sur appât humain.

12.4.2 Expertise requise aux niveaux national, régional, provincial, du district et de l'État

La disponibilité de professionnels formés constitue un élément essentiel d'un système de lutte antivectorielle. Au niveau national, il est essentiel de disposer d'entomologistes ayant une formation doctorale formelle (doctorat ou équivalent) et une expertise de terrain. Au niveau infranational, des entomologistes ayant une formation académique moins formelle (licence ou maîtrise ou équivalent) peuvent être requis s'il existe un système de consultation entre les niveaux national et infranational. Les entomologistes à ce niveau doivent être relativement indépendants et capables de préparer, mettre en œuvre et évaluer des plans et des opérations de lutte antivectorielle, avec l'aide de professionnels au niveau régional ou national le cas échéant. Bien que dans l'idéal, un entomologiste ayant l'expertise nécessaire serait employé par le ministère de la santé, il peut s'avérer nécessaire de rechercher ces experts auprès d'universités et d'instituts de recherche locaux et nationaux.

12.4.3 Personnel formé

Des entomologistes qualifiés doivent être identifiés à différents niveaux administratifs d'un programme d'élimination de l'onchocercose ; ils seront responsables de la planification et de la mise en œuvre sûre et efficace des activités de lutte antivectorielle. Leurs rôles comprennent :

- l'obtention des cartes pertinentes de la zone du projet ;
- l'élaboration d'un plan opérationnel pour la cartographie ;
- l'identification du personnel de terrain approprié ;
- la compilation d'une liste du matériel et des fournitures de terrain ;
- la création d'une base de données pour la maintenance et l'analyse des données ;
- la formation du personnel de terrain ;
- la supervision du personnel de terrain ;
- la prise de décisions techniques sur la lutte antivectorielle ; et
- la préparation des rapports techniques.

12.4.4 Budget

Un budget réaliste doit être établi pour le plan d'action du projet de lutte antivectorielle ; il doit en outre être raisonnable et directement lié aux activités principales. En plus des frais administratifs, les grandes lignes budgétaires devraient comprendre :

- les indemnités journalières et la compensation du personnel ;
- le carburant pour véhicules et motos ;
- l'équipement, notamment un débitmètre, des pompes de pulvérisation, des appareils GPS et des microscopes ;
- les fournitures de terrain, y compris l'EPI, les réactifs, les produits chimiques et la verrerie ;
- les larvicides ; et
- l'équipement de communication.

Un certain nombre de mesures peuvent être prises pour optimiser le budget de lutte antivectorielle. L'intervalle entre les traitements larvicides au sol peut être réduit à tous les 2 ou 3 mois si la densité des populations de vecteurs reste relativement faible. Des essais peuvent être nécessaires pour déterminer un niveau acceptable, p. ex. une réduction de 50 %, 80 % ou 90 % de la population ciblée, à partir duquel le traitement pourrait être interrompu. Une autre économie consisterait à effectuer les traitements larvicides des gîtes larvaires productifs tout au long de l'année uniquement pendant la saison sèche, de sorte qu'au début de la saison des pluies, lorsque la reproduction s'étend à d'autres sites dans la zone de transmission, la population de mouches repeuplant la zone est plus petite.

12.5 Caractéristiques d'un bon larvicide

Les larvicides ciblent spécifiquement le stade larvaire d'un insecte. Il peut s'agir de poisons par contact ou par ingestion, de régulateurs de croissance ou d'agents de lutte biologique. Un insecticide n'est jamais distribué à l'état pur (qualité technique) mais plutôt comme une formulation, à savoir une combinaison de divers ingrédients destinés à rendre le produit utile et efficace pour l'usage revendiqué et le mode d'action envisagé (115).

Les formulations insecticides disponibles sur le marché comprennent des suspensions concentrées, des poudres mouillables, des granulés mouillables, des concentrés émulsifiables et des aérosols. Quel que soit l'insecticide utilisé pour lutter contre les simulies, le produit formulé doit démontrer un effet létal sur 100 % des populations larvaires et un effet négligeable, voire nul, sur la faune non ciblée. Il est préférable d'utiliser les produits insecticides préqualifiés par l'OMS car leur efficacité, leur sécurité et leur qualité ont été évaluées.¹

Les autres caractéristiques des formulations insecticides devraient inclure :

- une stabilité acceptable pour le stockage dans des conditions tropicales ;
- une portée importante après la formulation ;
- la biodégradabilité, avec très peu de possibilité d'accumulation dans l'environnement ;
- l'accessibilité économique ;
- un faible risque de favoriser la résistance ;
- une bonne disponibilité commerciale ; et
- une application facile et sans danger.

12.6 Larvicides adaptés

Il existe actuellement deux catégories de larvicides adaptés aux simulies :

- **les larvicides biologiques ou synthétiques**, comprenant des formulations de composés organophosphorés (p. ex. téméphos ou Abate®, chlorphoxime), qui sont biodégradables et ont pratiquement remplacé la plupart des composés organochlorés plus anciens ; et
- **les biolarvicides (insecticides biologiques)**, qui sont à base d'analogues d'hormones juvéniles d'insectes (régulateurs de croissance) ou de *Bacillus* (p. ex. *B. thuringiensis israelensis* H-14).

12.7 Méthodes d'utilisation des larvicides

Les sites destinés aux traitements larvicides doivent avoir été entièrement prospectés et identifiés avant toute application. La productivité et la saisonnalité de chaque site doivent être documentées et les caractéristiques hydrologiques, telles que spécifiées dans le Chapitre 6, doivent être définies. Les paramètres spécifiques à déterminer avant l'application des larvicides sont :

- l'identité de l'espèce larvaire ;
- la dynamique annuelle des populations préimaginales et imaginales de simulies, et la sensibilité des populations larvaires locales de *Simulium* aux insecticides (voir 116) ;
- le débit et la turbidité de la rivière ; et
- l'évaluation de base de la faune indicatrice non ciblée au niveau des gîtes larvaires ciblés.

¹ <https://extranet.who.int/pqweb/vector-control-products/prequalified-product-list>

Une fois que ces paramètres sont déterminés, les épandages insecticides peuvent alors s'effectuer à pied, par embarcation ou par voie aérienne. Le choix de la technique sera déterminé par :

- les caractéristiques de la rivière (large, étroite) ;
- la période (crue/décru) ;
- la surface à traiter ; et
- les propriétés physiques de l'insecticide.

12.8 Traitements larvicides au sol des gîtes larvaires

12.8.1 Introduction

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour appliquer des larvicides au niveau du sol. La méthode choisie doit assurer un traitement durable et efficace des gîtes larvaires et être adaptée à la nature physique du système fluvial (p. ex., taille, débit) (65, 106). Pour traiter les petits cours d'eau, une méthode simple consiste à mélanger la dose requise dans un seau au bord de l'eau et à verser le contenu directement dans le courant. Pour les grands ruisseaux et les petites rivières, la dose requise est mélangée à de l'eau dans un pulvérisateur à dos ou un pulvérisateur à compression manuelle puis appliquée pendant 30 minutes ou plus au niveau du gîte larvaire (63) (Fig. 12.2). Lorsqu'il s'agit d'une très grande rivière, l'insecticide formulé peut être libéré à partir d'un fût métallique transporté dans un bateau et mélangé à l'eau par l'hélice du moteur.

Figure 12.2. Exemples de traitement larvicide au sol avec un pulvérisateur à dos. A. Traitement de la rivière Namatala pour combattre *S. neavei* dans le foyer du Mont Elgon, à l'est de l'Ouganda. B. Traitement larvicide au sol dans la rivière Lanyadyang pour combattre *S. damnosum* s.s. dans le foyer de Madi-Mid North, dans le nord de l'Ouganda.



A



B

Source : photographies de T. Lakwo

12.8.2 Larvicides pour application au sol

Deux larvicides sont habituellement utilisés pour lutter contre les larves de simulies : le téméphos et *Bacillus thuringiensis israelensis* H-14 (Tableau 12.1).

Le téméphos est un organophosphate qui peut être utilisé pour traiter l'eau infestée par divers insectes vecteurs, notamment les moustiques, les moucherons et les larves de simulies. Comme d'autres organophosphates, le téméphos affecte le système nerveux central des insectes en inhibant la cholinestérase I, une enzyme qui décompose le neurotransmetteur acétylcholine. Chez les larves de simulies, cela entraîne la mort avant qu'elles n'atteignent le stade adulte. Le téméphos a une toxicité extrêmement faible pour les mammifères et peut être appliqué à l'eau potable pour tuer les puces d'eau porteuses de larves du ver de Guinée ou les larves de moustiques. En tant que larvicide contre les simulies, les avantages du téméphos sont un coût relativement faible, une action insecticide rapide et une longue portée après application dans les habitats naturels.

B. thuringiensis israelensis H-14 est un insecticide biologique avec plusieurs avantages : une grande facilité de mise en suspension aqueuse ; une sélectivité élevée pour les diptères nématocères (en particulier les larves de *Simulium* qui se nourrissent par filtrage) ; une innocuité absolue pour la faune non ciblée lorsqu'il est appliqué à la dose recommandée ; et une efficacité remarquable, car aucune population simulidienne n'y a encore présenté de résistance. Ses inconvénients par rapport au téméphos sont une dose à utiliser relativement élevée et une portée est faible, d'où l'augmentation des points d'épandage.

Tableau 12.1. Description et taux d'application du téméphos et de *B. thuringiensis israelensis* H-14.

Larvicide	Formulation	Taux d'application (quantité par l)	Mode d'action	Portée (km) ^a
Téméphos	Concentré émulsionnable (CE)	200 g PA/l	Poison par contact et ingestion	Q 15/m ³ /s ; Q 100/m ³ /s
<i>B. thuringiensis israelensis</i> H-14	Concentré de suspension (CS)	2 % (de toxine)	Poison par ingestion	Q 2–5/m ³ /s ; Q 15/m ³ /s

Source : Opérations de lutte antivectérielle, OCP

PA : principe actif ; Q : débit volumique

^a Portée (épandage efficace d'insecticide) en décrue (valeurs à gauche) et en crue (valeurs à droite)

12.8.3 Quantité de larvicide à appliquer

La quantité de larvicide à appliquer dépend de la dose et du débit de la rivière. Par exemple, l'OCP a utilisé les deux larvicides répertoriés dans le Tableau 12.1 en Afrique de l'Ouest, mais *B. thuringiensis israelensis* H-14 a été formulé pour une application à des doses de 0,54 à 0,73 l/m³ par seconde et les applications opérationnelles du téméphos variaient de 0,15 à 0,30 l/m³ par seconde (114). Ces différentes concentrations reflètent les différences de toxicité et de portée des deux larvicides.

Abate® est disponible en deux formulations, dont l'une ne convient pas pour lutter contre les simulies vectrices. Abata® 500E est un concentré liquide contenant 500 g de principe actif par litre. Il est en général utilisé sous forme de concentré émulsionnable dilué à la dose correcte, comme indiqué dans le Tableau 12.1. La formulation 1SG contient des granules de sable comme support inerte et ne convient pas pour être utilisé comme larvicide contre les simulies. *B. thuringiensis israelensis* H-15 (Teknar) est disponible dans une formulation aqueuse et est généralement utilisé à une dose de 0,54 l/m³ par seconde.

Remarque : Afin de garantir un dosage correct, toujours lire l'étiquette du produit avant de mesurer la quantité de larvicide et de procéder à l'épandage dans des habitats naturels.

12.8.4 Importance de l'hydrologie dans les traitements larvicides

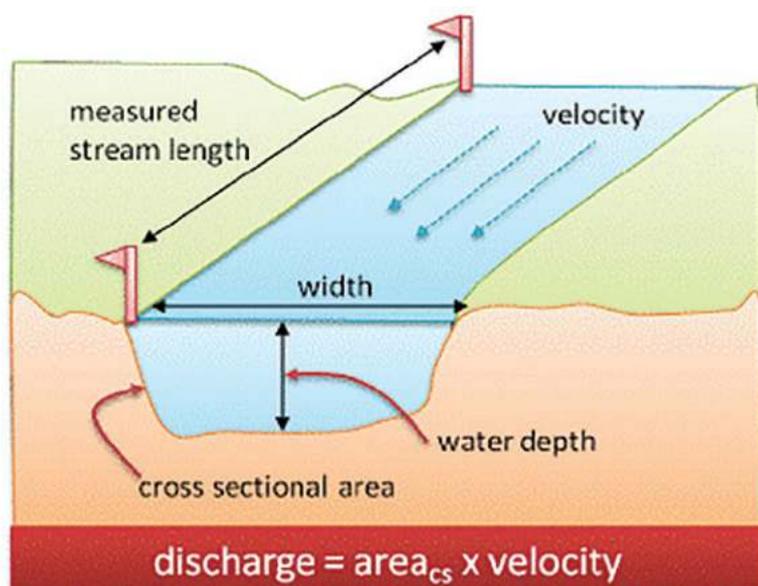
La part de l'hydrologie (mouvement de l'eau par rapport à la terre) dans la lutte contre l'onchocercose est importante. Les stades immatures des simulies se trouvent uniquement dans l'eau courante (Chapitre 2), ce qui fait de la réduction à la source par traitements larvicides au sol un complément important à l'AMM. La connaissance des débits des cours d'eau à traiter est un facteur essentiel de la qualité et de l'efficacité des applications de larvicides. Les sous dosages risquent d'être inefficaces contre les vecteurs et d'avoir de graves conséquences épidémiologiques, telles que la transmission continue du parasite et la sélection de populations de simulies résistantes, tandis que les surdosages peuvent être préjudiciables à l'environnement.

12.8.5 Mesure directe du débit d'une rivière

Le débit de la rivière doit être déterminé avec précision afin de calculer le régime de dosage approprié. Le débit est le volume d'eau qui transite par une rivière par seconde : il est lié à la hauteur d'eau dans la rivière, à la vitesse du courant et à la largeur de la rivière. Pour déterminer la quantité de larvicide nécessaire au traitement d'un segment de rivière, la formule à utiliser est la suivante :

$$\text{Quantité de larvicide (l)} = \text{Dose de larvicide (l/m}^3 \text{ par s)} \times \text{débit (m}^3\text{/s)}.$$

Figure 12.3. Trois paramètres requis pour calculer le débit d'une rivière.



Source : Dr Carsten Kessler

Le calcul direct du débit d'une rivière nécessite la détermination de trois paramètres : la largeur, la profondeur moyenne et la vitesse du courant (Fig. 12.3). Les mesures doivent être effectuées à un point de la rivière qui peut être franchi à gué, où le débit est uniforme et le fond régulier.

Sur les rivières où il existe une échelle de crue à proximité du point d'application de l'insecticide, il est recommandé de l'utiliser pour déterminer la profondeur. Cette échelle se compose d'une série de pieux métalliques verticaux sur lesquels sont fixées des plaques graduées. Chaque plaque mesure 1 mètre et est divisée en unités de 1 centimètre.

Deux méthodes permettent de mesurer la vitesse du courant : le micromoulinet et la méthode du flotteur et. Le micromoulinet est un appareil (Fig. 12.4) qui permet de mesurer la vitesse du courant en tout point du cours d'eau. Malheureusement son coût et sa fragilité dans les conditions de terrain sont des inconvénients majeurs. La méthode du flotteur consiste à estimer la vitesse du courant à partir d'un flotteur (habituellement un récipient en plastique ou « pillulier » partiellement rempli d'eau) que l'on fait dériver au fil de l'eau.

Le processus est le suivant :

- Choisir une portion de rivière de longueur connue (L) en mètres.
- Déterminer le temps (T1) en secondes mis par le flotteur pour parcourir la longueur connue (L).
- Procéder à 3 mesures successives : T1, T2 et T3.

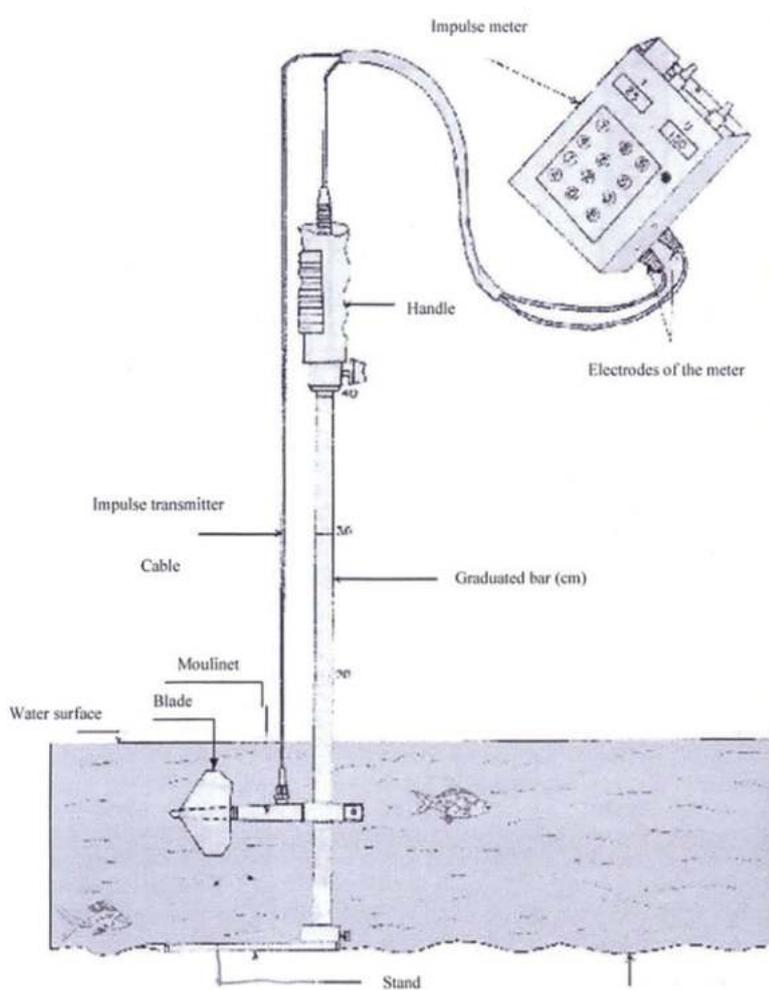
La vitesse en surface (Vs) est donnée par la formule : $V_s \text{ (m/s)} = L \text{ (m)} \times 3 / (T_1 + T_2 + T_3) \text{ (s)}$.

La vitesse du courant étant plus rapide en surface, on a recours à un coefficient de correction pour obtenir la vitesse moyenne (Vm), soit $V_m = V_s \times 0,8$.

La largeur et la profondeur moyennes de la rivière doivent être mesurées au même endroit où la vitesse a été déterminée, comme suit : tendre une corde graduée en travers du cours d'eau, perpendiculairement au courant ; mesurer la largeur (l) en évitant de prendre en compte les bords où le courant est insignifiant ; traverser le cours d'eau, en mesurant 4 fois la profondeur (P) en mètres, puis faire la moyenne pour estimer la profondeur moyenne (Pm), soit $P_m \text{ (m)} = (P_1 + P_2 + P_3 + P_4) / 4$.

Le débit (Q) est déterminé à partir de la vitesse moyenne (Vm), la profondeur moyenne (Pm) et la largeur (L) de la rivière, selon la formule : $Q \text{ (m}^3\text{/s)} = V_m \text{ (m/s)} \times P_m \text{ (m)} \times L \text{ (m)}$.

Figure 12.4. Illustration d'un micromoulinet.



Source : référence 65

12.8.6 Méthodes d'application des larvicides

Le choix de la méthode d'application dépend de la formulation larvicide utilisée, de la taille de la rivière et de la configuration des gîtes larvaires. Si l'insecticide retenu est *B. thuringiensis israelensis* H-14, celui-ci doit être appliqué immédiatement en amont des premiers supports portant les larves, car la portée du produit est faible. La téméphos a une portée beaucoup plus élevée.

Si la rivière est étroite et peu profonde, l'insecticide peut être appliqué à partir des berges ou lors d'un passage à gué en amont du gîte larvaire. Si la rivière est large et profonde, il faut utiliser un bateau ou une pirogue.

Application à pied à partir des berges : Cette méthode utilise un pulvérisateur sous pression (Fig. 12.2) constitué d'un petit réservoir, d'une pompe et d'un tuyau flexible se terminant par une gâchette, une lame rigide et une buse. Cet appareil permet de pulvériser l'insecticide sous pression, en plusieurs allers-retours et en couvrant toute la largeur de la rivière. La portée maximale du jet de l'appareil est de 10 mètres. En l'absence de pulvérisateur et lorsqu'il s'agit de traiter un ruisseau ou un cours d'eau peu profond, un arrosoir ou un seau peut être utilisé pour déverser l'insecticide pendant que l'on traverse la rivière. **Toujours** déverser l'insecticide en aval de l'endroit où l'on se trouve. Lors de l'application de *B. thuringiensis israelensis* H-14, veiller à traverser en soulevant le moins de boue possible car l'eau boueuse en diminue l'efficacité.

Traitement à partir d'un bateau : Lorsque les gîtes larvaires se trouvent dans de grandes rivières, un traitement par bateau est nécessaire. Prendre soin d'utiliser une embarcation fiable et **toujours** porter un gilet de sauvetage. L'insecticide peut être épandu avec un pulvérisateur ou un arrosoir, si la quantité est inférieure à 10 litres. Si une plus grande quantité est utilisée, il faut recourir à un baril ou un fût muni d'un robinet et d'un segment de tuyau muni d'une vanne pour régler l'écoulement de l'insecticide. L'application doit être uniforme, continue et couvrir toute la largeur de la rivière. Il est souvent utile de procéder à un essai avec une quantité équivalente d'eau pour mieux régler l'épandage de l'insecticide.

12.8.7 Sélection des points d'épandage

L'emplacement des gîtes larvaires sur une carte doit être revu pour assurer la sélection des points appropriés pour l'épandage. En l'absence de données cartographiques, la prospection est nécessaire (Chapitre 6) pour localiser les gîtes larvaires et créer une carte à des fins d'utilisation ultérieure. Chaque gîte larvaire situé au-delà de la portée en aval du traitement exige une nouvelle application d'insecticide. IL est essentiel de déterminer avec précision la portée de traitement et l'espacement des points d'application pour éviter le gaspillage.

Dans les cours d'eau saisonniers en saison sèche, les gîtes larvaires sont généralement des seuils rocheux isolés, séparés par de grands bassins dans lesquels l'eau est stationnaire. Chaque seuil doit être traité individuellement avec une dose complète de larvicide car la portée du traitement (à savoir son déplacement en aval du point d'application) est alors quasiment nulle.

12.8.8 Fréquence des traitements

Les simulies des rivières africaines achèvent habituellement leur développement larvaire en 8 à 10 jours ou moins (5 jours) lorsque la température de l'eau est supérieure à 35 °C. Si l'objectif est d'éliminer le vecteur, le traitement doit être administré chaque semaine. Lorsque des larvicides sont utilisés en complément de l'AMM, l'objectif est de réduire le TAP jusqu'à ce que la population parasitaire ne puisse plus être maintenue (Chapitre 11). Il sera nécessaire d'effectuer des essais pour déterminer la fréquence à laquelle les gîtes larvaires doivent être traités pour obtenir la réduction souhaitée des taux de piqûres. La modélisation suggère que pour préserver le statut endémique d'*O. volvulus*, un TAP de 730 ou plus est requis, mais, à mesure que le réservoir microfilaire diminue grâce à l'AMM, le taux de piqûres doit augmenter pour compenser cette réduction (99).

Les résultats des traitements manuels peuvent être consignés sur une fiche telle que celle-ci, adaptée des formulaires de l'OCP.

Semaine/date Système fluvial : _____ Zone : _____

Date	Rivière	Passage	Larvicide	Dose	Points	Observations

12.8.9 Évaluation de l'efficacité des traitements larvicides

L'efficacité opérationnelle des traitements larvicides doit être évaluée pour garantir que les fonds investis dans le programme ont été utilisés à bon escient. Avant de lancer un programme de traitement larvicide, la répartition et la densité des larves doivent être déterminées, et tout changement doit être surveillé régulièrement pour déterminer l'impact du traitement sur la population de vecteurs. La densité des stades préimaginaux et leur répartition par tranches d'âge (jeunes larves, larves âgées et nymphes) doivent être codées au moment de la prospection et régulièrement après le traitement. Si la densité et la répartition des larves ne changent pas après le traitement, une évaluation doit être menée pour déterminer la cause de l'échec (p. ex., dosage inadéquat ou résistance aux insecticides).

12.8.10 Application sécuritaire des larvicides

L'épandage des larvicides doit être effectué de manière à réduire le plus possible l'exposition des personnes chargées de leur application. Celles-ci doivent recevoir une formation appropriée sur la manipulation à faible risque des larvicides et l'élimination des déchets ou des conteneurs vides, et doivent être dotés d'un EPI approprié (115).

12.9 Surveillance de la résistance des larves aux insecticides

12.9.1 Introduction

L'utilisation d'insecticides à long terme et à grande échelle à des fins de santé publique a entraîné l'émergence de populations d'insectes résistantes à divers produits, conduisant à l'échec de certaines campagnes de lutte antivectorielle. Le risque de résistance résultant de l'utilisation prolongée et intensive d'un seul insecticide doit donc être pris en compte lors de la planification.

Si le traitement échoue, plusieurs questions doivent être posées.

- Le larvicide utilisé était-il de qualité assurée ?
- Le larvicide a-t-il été appliqué aux doses et à la fréquence recommandées ?
- La formulation du larvicide était-elle inadaptée ou trop diluée ?

- L'insecticide a-t-il réellement traversé les gîtes larvaires ou les points d'application étaient-ils mal choisis ?
- La population cible de simulies est-elle devenue physiologiquement résistante à l'insecticide ?

La résistance est l'apparition dans une souche d'insectes de la capacité de tolérer des doses de substances toxiques qui, jusque-là se sont montrées létales pour la majorité des individus composant une population normale de la même espèce. La résistance a une base héréditaire et se produit par sélection dans des conditions naturelles au niveau de la population. Les différentes formes de résistance sont les suivantes :

- la résistance physiologique, qui résulte de la sélection d'individus dans une population qui sont physiologiquement capables de détoxifier l'insecticide et de se remettre de ses effets à la dose létale habituelle ;
- la résistance croisée, un phénomène dû à la sélection d'un ou plusieurs mécanismes de détoxification agissant contre les insecticides d'un groupe chimique particulier (p. ex., la résistance générale aux organophosphorés) ; ou
- la résistance comportementale (évitement), issue d'une sélection de changements du comportement par lesquels l'insecte évite le contact ou l'absorption d'une quantité létale d'insecticide.

Afin d'en atténuer la progression, la résistance aux insecticides doit être surveillée régulièrement dans les populations de terrain des espèces vectrices et l'insecticide doit être remplacé par un produit de substitution ou alternatif appartenant à un autre groupe chimique dont le mode d'action n'est pas apparenté. Cela permet également d'éviter la possibilité d'une résistance croisée. Lors du choix d'autres insecticides, il convient de tenir compte de leurs effets toxiques sur la faune aquatique non ciblée, de leur rapport coût-efficacité et du degré de sensibilité de la population de simulies à leur toxicité.

12.9.2 Évaluation de la sensibilité des larves de *S. damnosum s.l.* aux insecticides

L'apparition d'une résistance dans le cadre d'une campagne de lutte antivectorielle contre *Simulium* spp peut nécessiter une révision de l'ensemble de la stratégie, et notamment changer le larvicide devenu inefficace. La sensibilité initiale des larves de *S. damnosum s.l.* doit donc être mesurée et surveillée en permanence, et la fréquence et l'intensité de la résistance des espèces *Simulium* aux larvicides doivent aussi être suivies. Des méthodes précises et normalisées sont disponibles pour mesurer la sensibilité et la résistance des insectes cibles. Le principe des tests de sensibilité est résumé de la manière suivante :

- exposer plusieurs lots de larves de *Simulium* collectées sur le terrain à des concentrations en série du principe actif du larvicide dans un laboratoire ;
- établir la courbe dose-réponse ; et
- déterminer les concentrations d'insecticide qui détruisent respectivement 50 %, 95 % ou 99 % (CL_{50} , CL_{95} , CL_{99}) des populations larvaires exposées.

La CL_{50} est la valeur la plus importante ; elle représente la sensibilité fondamentale de la population testée. Le type de test effectué pour mesurer la CL_{50} dépendra du mode d'action de l'insecticide étudié. Par exemple, le test Mouchet permet d'évaluer la létalité par contact avec l'insecticide (composés organophosphorés) (65). Un autre test est utilisé pour évaluer la sensibilité des larves aux produits qui agissent uniquement par ingestion (p. ex. *B. thuringiensis israelensis*). Dans ce dernier cas, les larves de simulies sont exposées à diverses concentrations en série de *B. thuringiensis israelensis* H-14 en les plaçant dans des récipients en verre verticaux dotés d'agitateurs magnétiques pour créer un mouvement du liquide à travers leurs éventails céphaliques. De cette façon, les larves ingèrent les spores et sont infectées.

12.10 Lutte antivectorielle à base communautaire

12.10.1 Un exemple en Ouganda

Dans le nord de l'Ouganda, les communautés ont appuyé la lutte contre les simulies, par exemple en stockant de façon sécuritaire les produits chimiques, les pompes, les cylindres de mesure et d'autres fournitures comme les EPI. Le personnel technique reste néanmoins chargé de mesurer le débit de la rivière et de s'assurer que la quantité d'insecticide (téméphos) est correcte et appliquée aux points sélectionnés. Les partenariats avec les communautés ont réduit les coûts opérationnels par rapport aux sites impliquant uniquement le personnel du ministère de la santé.

Les membres de certaines communautés ougandaises ont été formés pour participer à la pulvérisation intradomiciliaire d'insecticide à effet rémanent et à la recherche des sources larvaires de moustiques. Il serait possible de mener des activités de recherche opérationnelle pour déterminer si ces communautés sont aussi capables de mettre en œuvre en toute sécurité des mesures de lutte contre les simulies impliquant des traitements larvicides au sol.

12.10.2 Approches émergentes dans le domaine de la lutte antivectorielle contre les simulies

Il existe deux approches émergentes dans le domaine de la lutte antivectorielle qui ne font pas appel aux insecticides et se prêtent donc aux programmes communautaires.

Pièges

Les premières conclusions au Mexique indiquent que le piège EWT pourrait réduire considérablement les taux de piqûres individuelles de *S. ochraceum* dans et autour des ménages et des écoles (117). Cette observation est particulièrement importante car cette espèce vectrice est très anthropophile. Des découvertes récentes en Ouganda indiquent qu'une version modifiée du piège peut potentiellement attirer et capturer un grand nombre de *S. damnosum* s.s. dans et autour des villages (118). La pose de ces pièges dans des classes en plein air et des champs agricoles a permis de réduire de 90 % le nombre de piqûres dans une école. Les résultats étaient variables sur le terrain, les pièges réduisant d'environ 50 % les piqûres dans un cas et ne montrant aucune réduction significative par rapport à la capture sur appât humain dans un autre. Ces données suggèrent que l'emplacement des pièges peut être critique dans les zones plus ouvertes où moins de personnes se rassemblent. Des recherches opérationnelles étaient en cours au moment de la rédaction de ce manuel.

Défricher et nettoyer

Une deuxième approche communautaire dans la lutte contre les simulies consiste à modifier l'environnement, affectant ainsi le développement des mouches ; il s'agit d'interventions dites « slash and clear » (défricher et nettoyer). Par exemple, Buckley (119) a complètement défriché les sous-bois le long des rives de la rivière Riana et partiellement enlevé les arbres surplombant les zones de reproduction de *S. neavei*, entraînant l'élimination temporaire de la population locale de vecteurs. Plus récemment, en Ouganda, l'élimination sous directives communautaires de la végétation aquatique rampante (défrichage et nettoyage) a considérablement réduit le nombre de gîtes larvaires, entraînant une réduction significative de la densité de piqûres de *S. damnosum* s.s. (120, 121). Lorsque des interventions de ce type ont été menées dans 34 gîtes larvaires de *S. damnosum* s.s. situés à moins de 2 km des communautés touchées, les piqûres de vecteurs ont été réduites de 95 % (Fig. 12.5). Lorsque la zone de défrichage s'étendait sur plus de 2 km, il n'y avait pas de diminution supplémentaire du taux de piqûres, indiquant que la population de simulies piqueuses se reproduisait localement. De plus, lorsqu'une seule intervention a été menée au cours de la première moitié de la saison des pluies, le taux de piqûres a été

réduit de 97 %, tandis qu'une intervention de défrichage à la fin de la saison des pluies a entraîné une réduction de 94 %. L'impact de ces activités de défrichage et de nettoyage était si important que le nombre de vecteurs dans les villages impliqués ne s'était pas complètement rétabli au début de la prochaine saison des pluies. Les membres de la communauté étaient motivés à participer à cet effort d'élimination sélective de la végétation en raison de la réduction du taux de piqûres et de la probabilité d'un soulagement significatif suite au défrichage une ou deux fois par an. L'évaluation de ces résultats dans un nouveau modèle mathématique de l'effet des interventions de défrichage et de nettoyage sur les taux saisonniers de piqûres de simulies, associé à un modèle de dynamique des populations pour la transmission d'*O. volvulus*, a montré que le fait d'ajouter cette pratique à l'AMM annuelle par l'ivermectine pourrait considérablement accélérer l'élimination de l'onchocercose (122). D'autres essais ailleurs sont attendus.

Figure 12.5. Enlèvement de la végétation rampante dans un gîte larvaire de *S. damnosum* s.s. en Ouganda.



Source : photographie de T. Unnasch

Références bibliographiques

1. Davies JB, Crosskey RW. *Simulium* – vectors of onchocerciasis. Geneva: World Health Organization; 1991 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/59007>).
2. Nwoke BEB. Studies on the field epidemiology of human onchocerciasis on the Jos Plateau, Nigeria. PhD Thesis, University of Jos, Nigeria; 1987.
3. Comité OMS d'experts de l'onchocercose [réuni à Genève du 21 au 29 avril 1986] : troisième rapport. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 1987 (<https://iris.who.int/handle/10665/38915>).
4. Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaboration. Global, regional and national incidence, prevalence and year lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study 2017. *Lancet*. 2017;392:1789–858.
5. Renz A, Wenk P. Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North-Cameroon. I. Prevailing *Simulium* vectors, their biting rates and age-composition at different distances from their breeding sites. *Ann Trop Med Parasitol*. 1987;81:215–28.
6. Nwoke BEB, Onwuliri COE, Ufomadu GO. Onchocerciasis in Plateau State, Nigeria: Clinical manifestations and socioeconomic aspects. *Med Sci (Nigeria)*. 1995;6(1):6–9.
7. Buck AA, editor, Onchocerciasis: symptomatology, pathology, diagnosis. Geneva: World Health Organization; 1974 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/39732>).
8. Economic impact of onchocercal skin disease (OSD). Report of a multi-country study (TDR Applied Field Research Report). Geneva: World Health Organization; 1997.
9. GBD 2017 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392:1859–1922.
10. World Bank. World Bank development report 1993: investing in health. Oxford: Oxford University Press; 1993.
11. Benton B. Economic impact of onchocerciasis control through the African Programme for Onchocerciasis control: an overview. *Ann Trop Med Parasitol*. 1998;92(Suppl.1):S33.
12. Scramber G. Deviance labelling and stigma. London: Baillier, Tindal & Cassel; 1982.
13. Jowett S, Ryan TC. Skin disease and handicap: an analysis of the impact of skin condition. *Social Sci Med*. 1985;20(4):425–9.
14. Goffman E. Stigma. Notes on the management of spoiled identity. Englewood Cliffs (NJ): Prentice Hall; 1963.
15. Goodman N, Richardson D, Hastorf AH. Variant reaction to physical disabilities. *Ann Soc Rev*. 1962;28:429–35.
16. Porter JR, Beuf A. Racial variation in reaction to physical stigma: A study of degree of disturbance by vitiligo among black and white patients. *J Health Sci Behav*. 1991;32:192–204.
17. Prost A, Vaugelade J. La surmortalité des aveugles en zone de savane ouest-africaine [Excess mortality of blind people in the West African savannah]. *Bull World Health Organ*. 1981;59:773–6.
18. Duke BOL. Human onchocerciasis: an overview of the disease. *Acta Leidensia*. 1990;59(1,2):9–24.
19. Nwoke BEB, Ikonne EU. Onchocerciasis blindness. The Nigeria situation. *Nigeria J Optometry*. 1993;7(1):2–7.
20. Joint Action Forum. Ougadougou: WHO African Programme for Onchocerciasis Control; 1995.
21. Rolland A, Balay G. L'onchocercose dans le foyer Bissa de la Volta Blanche. Bilan médical et entomologique. Rôle de l'endémie dans l'abandon des vallées [Onchocerciasis in the Bissa focus of the White Volta. Role of endemicity in the abandonment of the valleys]. In : 8^e Conférence technique de l'OCCGE, Bamako, 19–23 April 1968. Bobo Dioulasso : Organisation de coopération et de coordination pour la lutte contre les grandes endémies ; 1969 (https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_5/b_fdi_10-11/12438.pdf).

22. The prevention of blindness: report of a WHO study group [meeting held in Geneva from 6 to 10 November 1972]. Geneva: World Health Organization; 1973 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/38222>).
23. Waddy BB. Onchocerciasis and blindness in the northern territories of Gold Coast (Ghana). Accra: Government of Gold Coast; 1949 [unpublished report].
24. Hunter JM. River blindness in Nagodi, northern Ghana: a hypothesis of cyclical advance and retreat. In: McGlachan ND, editor. Medical geographic techniques and field studies. London: Methuen; 1972:61–78.
25. Dunn C, Callahan K, Katarbarwa M, Richards F, Hopkins D, Withers PC Jr et al. The contributions of onchocerciasis control and elimination programs toward the achievement of the Millennium Development Goals. PLoS Negl Trop Dis. 2015;9(5):e0003703.
26. Lutter contre les maladies tropicales négligées pour atteindre les objectifs de développement durable : feuille de route pour les maladies tropicales négligées 2021–2030. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2020 (<https://iris.who.int/handle/10665/346560>).
27. Onchocercose. Lignes directrices pour l'arrêt de l'administration de masse de médicaments et la vérification de l'élimination de l'onchocercose humaine : critères et procédures. Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2016 (<https://iris.who.int/handle/10665/254704>).
28. Verver S, Walker M, Kim YE, Fobi G, Tekle AH, Zouré HGM et al. How can onchocerciasis elimination in Africa be accelerated? Modeling the impact of increased ivermectin treatment frequency and complementary vector control. Clin Infect Dis. 2018;66(Suppl 4).
29. Prost A, Callahan K, Thylefors B, Pairault C. Methodes d'évaluation épidémiologique de masse de l'onchocercose. Leur utilisation au cours d'un programme de lutte contre le vecteur [Epidemiological methods for evaluating the burden of onchocerciasis. Their use in a vector control programme]. Communication to the Expert Committee on Epidemiology of onchocerciasis. Geneva: World Health Organization; 1975 (ONCHO/WP/75).
30. Ngoumou P, Walsh JF. A manual for rapid epidemiological mapping of onchocerciasis. Geneva: World Health Organization; 1993 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/59537>).
31. Lindblade KA, Arana B, Zea-Flores G, Rizzo N, Porter CH, Dominguez A et al. Elimination of *Onchocerca volvulus* transmission in the Santa Rosa focus of Guatemala. Am J Trop Med Hyg. 2007;77:334–41.
32. Diawara L, Traore MO, Badji A, Bissan Y, Doumbia K, Goita SF et al. Feasibility of onchocerciasis elimination with ivermectin treatment in endemic foci in Africa: First evidence from studies in Mali and Senegal. PLoSNegl Trop Dis. 2009;3(7):e497.
33. Informal consultation on elimination of onchocerciasis transmission with current tools in Africa. Ouagadougou: African Programme for Onchocerciasis Control; 2009.
34. Thompson FC. The name of the type species of *Simulium* (Diptera: Simuliidae): An historical footnote. Entomol News. 2001;112:12–9.
35. Post RJ, Onyenwe E, Somiari SAE, MafuyaiCrainey JL, Ubachukwu PO. A guide to the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae) in Nigeria, with a cytotaxonomic key for the identification of the sibling species. Ann Trop Med Parasitol. 2011;105:277–97.
36. Service MW. Medical entomology for students. Cambridge: Cambridge University Press; 2008:81–92.
37. Peterson BV. Chapter 27. Simuliidae. In: McAlpine JF, Peterson BV, Shewell GE, Teskey HJ, Vockeroth JR, Wood DM. Manual of Nearctic Diptera. Vol. 1. Ottawa: Biosystematics Research Institute. 1981:355-391 [Agriculture Canada Monograph No. 27] (<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810582668>).
38. Sechan Y. Durée du développement des stades préimaginaux de *Simulium sirbanum* Vajime and Dunbar, 1975 à la limite nord de son aire de répartition en Afrique occidentale. Note préliminaire. Cah. O. R. S. T. O. M. sér. Ent. med. Et Parasitol. Vol. XVIII, no. 1.1980;59–60.
39. Currie DC, Craig DA. Feeding strategies of larval black flies. In: Kim KC, Merritt RW, editors. Black flies. Ecology, population management and world list. Philadelphia (PA): Pennsylvania State University; 1987:155–70.
40. Wenk P. Bionomics of adult blackflies. In: Laird M, editor. Blackflies: the future for biological methods in integrated control. New York City (NY): Academic Press; 1981.

41. Hendy A, Krueger A, Pfarr K, De Witte J, Kibweja A, Mwingira U et al. The blackfly vectors and transmission of *Onchocerca volvulus* in Mahenge, south eastern Tanzania. *Acta Trop.*2018;181:50-59.
42. Adler PH, Hamada N, Cavalcante do Nascimento JM, Grillet ME. River-specific macro genomic diversity in *Simulium guianense* s.l. (Diptera : Simuliidae), a complex of tropical American vectors associated with human onchocerciasis. *PLoS One.*2017;12(7):e0181679.
43. Grunewald J. The hydro-chemical and physical conditions of the environment of the immature stages of some species of the *Simulium* (*Edwardsellum*) *damnosum* complex (Diptera). *Tropenmed Parasitol.*1976;27:438–54.
44. Wenk P, Renz A, editors. *Parasitologie. Biologie der Humanparasiten* [Parasitology. Human parasite biology]. Stuttgart: Georg Thieme; 2003.
45. Olivry JC. *Fleuves et les rivières du Cameroun* [Rivers of Cameroon]. Yaoundé : Office de la recherche scientifique et technique outre-mer ; 1985 (<https://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:25393>).
46. Renz A, Fuglsang H, Anderson J. Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North-Cameroon. IV. The different exposure to *Simulium* bites and transmission of boys and girls and men and women, and the resulting manifestations of onchocerciasis. *Ann Trop Med Parasitol.* 1987;81:253–62.
47. Adler P. World blackflies (Diptera: Simuliidae): A comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory. Clemson (SC): Clemson University; 2021 (<https://biomia.sites.clemson.edu/pdfs/blackflyinventory.pdf>).
48. Post RJ, Mustapha M, Krueger A. Taxonomy and inventory of the cytospecies and cytotypes of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae) in relation to onchocerciasis. *Trop Med Int Health.* 2007;12:1342–53.
49. Lane RP, Crosskey RW, editors. *Medical insects and arachnids*. Springer Netherlands; 1993.
50. Crosskey RW, Crosskey ME. *The natural history of blackflies*. Chichester: John Wiley & Sons; 1990.
51. Crosskey RW. A re-classification of the Simuliidae (Diptera) of Africa and its islands. *Bull Brit Museum.* 1969; (Entomology Suppl. 14).
52. Crosskey RW. The identification of the larvae of African *Simulium*. *Bull World Health Organ.*1962;27:483–489.
53. Freeman P, de Meillon B. *Simuliidae of the Ethiopian region*. London: British Museum (Natural History);1953.
54. OMS/ONCHO/VCU. The reader is directed to a series of mimeographed reports and training modules developed by WHO to address vector biology and onchocerciasis control in West Africa. Some examples can be seen at ONCHO/WP/75.20, VBC/SC/78.11 and OCP 83.4.
55. Dang PT, Peterson BV. Pictorial keys to the main species groups within the *Simulium damnosum* Theobald complex occurring in West Africa (Diptera: Simuliidae). *Tropenmed Parasitol.* 1980;31:117–20.
56. Wilson MD, Post RJ, Gomulski LM. Multivariate morphotaxonomy of adult females of the *Simulium damnosum* Theobald complex (Diptera: Simuliidae) in the Onchocerciasis Control Programme area of West Africa. *Ann Trop Med Parasitol.* 1993;87:65–82.
57. Krueger A. Guide to blackflies of the *Simulium damnosum* complex in eastern and southern Africa. *Med. Vet Entomol.* 2006;20:60–75.
58. Meredith SE, Cheke RA, Garms R. Variation and distribution of forms of *Simulium soubrense* and *S. sanctipauli* in West Africa. *Ann Trop Med Parasitol.* 1983;77:627–40.
59. Mpagi J, Katamanywa J, Garm R. Dispersal range of *Simulium neavei* in an onchocerciasis focus of western Uganda. *Med Vet Entomol.* 2000;14(1):95–9.
60. Anderson J, Fuglsang H, Hamilton PJS, Marshall TFC. Studies on onchocerciasis in the United Cameroon Republic. I. Comparison of populations with and without *Onchocerca volvulus*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1974;68:190–208.
61. Maegga BTA, Kalinga AK, Kabula B, Post RJ, Krueger A. Investigations into the isolation of the Tukuyu focus of onchocerciasis (Tanzania) from *S. damnosum* s.l. vector re-invasion. *Acta Trop.*2011;117: 86–96.
62. Raybould GN, White GB. The distribution, bionomics and control of onchocerciasis vectors (Diptera: Simuliidae) in eastern Africa and the Yemen. *Tropenmed Parasitol.* 1979;30:505–47.

63. Garms R, Lakwo TL, Ndyomugenyi R, Kipp W, Rubaale T, Tukesiga E et al. The elimination of the vector *Simulium neavei* from the Itwara onchocerciasis focus in Uganda by ground larviciding. *Acta Trop.* 2009;111:203–10.
64. Puril M. On the life-history and structure of the early stages of Simuliidae (Diptera, Nematocera). Part I. *Parasitology.* 1925;17:295-334.
65. Module de formation des entomologistes nationaux à la prise en charge et à la supervision des activités entomologiques de lutte contre l'onchocercose. Ouagadougou : Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest ; 2002 (<https://iris.who.int/handle/10665/275465>).
66. Walsh JF, Davies JB, Grams R. Standardization of criteria for assessing the effects of *Simulium* control in onchocerciasis control programs. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1978;72:675–6.
67. Nwoke BEB. Studies on the field epidemiology of human onchocerciasis on the Jos Plateau, Nigeria. VII: The effects of climatic factors in the diurnal biting behavior of *Simulium damnosum* Theobald (Diptera: Simuliidae). *Insect Sci Applic.* 1988;9(3):323–8.
68. Hendy A, Sluydts V, Tusher T, de Witte J, Odunga P, Loum D et al. Esperanza window traps for the collection of anthropophilic black flies (Diptera: Simuliidae) in Uganda and Tanzania. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11(6):e0005888.
69. Rodríguez-Pérez MA, Adeleke MA, Burkett-Cadena ND, Garza Hernández JA, Reyes Villanueva F, Cupp EW et al. Development of a novel trap for the collection of black flies of the *Simulium ochraceum* complex. *PLoS One.* 2013;8(10):e76814.
70. Bellec C. Les methodes d'échantillonnage des populations adultes de *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera: Simuliidae) en Afrique de l'Ouest [Methods for sampling adult populations of *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera: Simuliidae) in West Africa]. Paris: Université de Paris-Sud;1974:23.
71. Thompson BH. Studies on the attraction of *Simulium damnosum* s.l. (Diptera: Simuliidae) to its hosts. III. Experiments with animal-baited traps. *Tropenmed Parasitol.* 1077;28:226–8.
72. Toé LD, Koala L, Burkett-Cadena NC, Traoré BM, Sanfo M, Kambiré SR et al. Optimization of the Esperanza window trap for the collection of the African onchocerciasis vector *Simulium damnosum sensu lato*. *Acta Trop.* 2014;137:39–43.
73. Loum D, Katholi CR, Lakwo T, Habomugisha P, Tukahebwa EM, Unnasch TR. Evaluation of community-directed operation of black fly traps for entomological surveillance of *Onchocerca volvulus* transmission in the Madi-mid north focus of onchocerciasis in Northern Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(4):1235–42.
74. Cozart D, Lakwo T, Liu C, Loum D, Jacob B, Cupp EW et al. Identification of human-derived attractants to *Simulium damnosum sensu stricto* in the Madi-mid north onchocerciasis focus of Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;103(4):1563–8.
75. Rodríguez-Pérez MA, Adeleke MA, Rodríguez-Luna IC, Cupp EW, Unnasch TR. Evaluation of a community-based trapping program to collect *Simulium ochraceum sensu lato* for verification of onchocerciasis elimination. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8(10):e3249.
76. Garms R, Cheke RA. Infections with *Onchocerca volvulus* in different members of the *Simulium damnosum* complex in Togo and Benin. *ZAngewZool.* 1985;72:479–95.
77. Phillippon B. Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893), (Nematode, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Thobald (1903) (Diptera: Simuliidae) en Afrique tropicale [Study of the transmission of *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893), (Nematode, Onchocercidae) by *Simulium damnosum* Thobald (1903) (Diptera: Simuliidae) in tropical Africa]. Paris: Office de la Recherche Scientifique et Technologique d'Outre mer;1977:63.
78. Lévêque C, Hougard JM, Resh V, Statzner B, Yaméogo L. Fresh water ecology and biodiversity in the tropics: What did we learn from 30 years of onchocerciasis control and the associated biomonitoring of West African rivers? *Hydrobiologia.* 2003;500:23–49.
79. Yameogo L, Toé L, Hougard JM, Boatina BA, Unnasch TR. Pool screen polymerase chain reaction for estimating the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium damnosum* s.l.: Results of a field trial in an area subject to successful vector control. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:124–8.

80. Adeleke MA. Bioecology, characterization and transmission indices of *Simulium damnosum* Theobald complex (Diptera: Simuliidae) along Osun River, southwestern Nigeria. PhD dissertation, University of Agriculture, Abeokuta, Nigeria; 2010.
81. Meredith SEO, Lando G, Gbakima AA, Zimmerman PA, Unnasch TR. *Onchocerca volvulus*: application of the polymerase chain reaction in identification and differentiation of the parasite. *Exp Parasitol.* 1991;73:335–44.
82. Katholi CR, Toé L, Merriweather A, Unnasch TR. Determining the prevalence of *Onchocerca volvulus* infection in vector populations by PCR screening of pools of black flies. *J Infect Dis.* 1995;172:1414–7.
83. Barker JT. Statistical estimators of infection potential based on PCR pool screening with unequal numbers of pools. PhD dissertation, University of Alabama at Birmingham, Birmingham (AL); 2010.
84. Gopal H, Hassan HK, Rodríguez-Pérez MA, Toé LD, Lustigman S, Unnasch TR. Oligonucleotide based magnetic bead capture of *Onchocerca volvulus* DNA for PCR pool screening of vector black flies. *PLoS Negl Trop Dis.* 2012;6(6):e1712.
85. Rodríguez-Pérez MA, Danis-Lozano R, Rodríguez MH, Unnasch TR, Bradley JE. Detection of *Onchocerca volvulus* infection in *Simulium ochraceum* s.l.: comparison of a polymerase chain reaction assay and fly dissection in a Mexican hypoendemic community. *Parasitology.* 1999;119:613–9.
86. Guevera AG, Viera JC, Lilley BG, Lopez A, Viera N, Rumbela J et al. Entomological evaluation by pool screen polymerase chain reaction of *Onchocerca volvulus* transmission in Ecuador following mass Mectizan distribution. *Am J Trop Med Hyg.* 2003;68(2):222–7.
87. Adeleke MA, Mafiana CF, Sam-Wobo SO, Olatunde GO, Ekpo UF, Akinwale OP et al. Biting behaviour of *Simulium damnosum* Theobald complex and *Onchocerca volvulus* infection along the Osun River system, southwest Nigeria. *Parasit Vectors.* 2010;3(93):1–5.
88. Tekle AH, Elhassan E, Isiyaku S, Amazigo UV, Bush S, Noma M. Impact of long-term treatment of onchocerciasis with ivermectin in Kaduna State, Nigeria: first evidence of the potential for elimination in the operational area of the African Programme for Onchocerciasis Control. *Parasit Vectors.* 2012;5:28.
89. Convit J, Schuler H, Borges R, Olivero V, Domínguez-Vásquez A, Frontado H et al. Interruption of *Onchocerca volvulus* transmission in northern Venezuela. *Parasit Vectors.* 2013;6:289.
90. Botto C, Basáñez MG, Escalona M, Vivas-Martínez S, Villamizar N, Noya-Alarcón O et al. Evidence of suppression of onchocerciasis transmission in the Venezuelan Amazonian focus. *Parasit Vectors.* 2016;9:40.
91. Fischer P, Rubaale T, Meredith SE, Büttner DW. Sensitivity of a polymerase chain reaction-based assay to detect *Onchocerca volvulus* DNA in skin biopsies. *Parasitol Res.* 1996;82(5):395–401.
92. Zimmerman PA, Guderian RH, Aruajo E, Elson L., Phadke P, Kubofcik J et al. Polymerase chain reaction-based diagnosis of *Onchocerca volvulus* infection: Improved detection of patients with onchocerciasis. *J Infect Dis.* 1994;169(3):686–9.
93. 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.
94. Alhassan A, Makepeace BL, LaCourse EJ, Osei-Atweneboana MY, Carlow CK. A simple isothermal DNA amplification method to screen black flies for *Onchocerca volvulus* infection. *PLoS One.* 2014;9(10):e108927.
95. Lloyd MM, Gilbert R, Taha NT, Weil GJ, Meite A, Kouakou IM et al. Conventional parasitology and DNA-based diagnostic methods for onchocerciasis elimination programmes. *Acta Trop.* 2015;146:114–8.
96. Thiele EA, Cama VA, Lakwo T, Mekasha S, Abanyie F, Sleshi M et al. Detection of *Onchocerca volvulus* in skin snips by microscopy and real-time polymerase chain reaction: Implications for monitoring and evaluation activities. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;94:906–11.
97. Prince-Guerra JL, Cama VA, Wilson N, Thiele EA, Likwela J, Ndakala N et al. Comparison of PCR methods for *Onchocerca volvulus* detection in skin snip biopsies from the Tshopo Province, Democratic Republic of the Congo. *Am J Trop Med Hyg.* 2018;98(5):1427–34.
98. Verocai GG, Hassan HK, Lakwo T, Habomugisha P, Katarbarwa MN, Begumisa S et al. Molecular identification of *Onchocerca* spp. larvae in *Simulium damnosum sensu lato* collected in northern Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97(6):1843–5.

99. Duerr HP, Eichner M. Epidemiology and control of onchocerciasis: The threshold biting rate of savannah onchocerciasis in Africa. *Int J Parasitol.* 2010;40:641–50.
100. Duke BOL. Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. IV. The biting cycles, infective biting density and transmission potential of “forest” *Simulium damnosum*. *Ann Trop Med Parasitol.* 1968;62:95–106.
101. Duke BOL, Anderson J, Fuglsang H. The *Onchocerca volvulus* transmission potentials and associated patterns of onchocerciasis at four Cameroon Sudan-savanna villages. *Tropenmed Parasitol.* 1975;26:143–54.
102. Walsh JF, Davies JB, le Berre R, Garms R. Standardization of criteria for assessing the effects of *Simulium* control in an onchocerciasis control program. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1978;72:675–6.
103. Walsh JF, Davies JB, le Berre R. Entomological aspects of the first five years of the Onchocerciasis Control Program in the Volta River Basin. *Tropenmed Parasitol.* 1979;30:328–44.
104. Critères biomédicaux pour le repeuplement de l’aire du Programme de Lutte contre l’Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta (PLO) : rapport d’un groupe de travail du groupe consultatif scientifique, Genève, 6-8 juin 1977. Programme de Lutte contre l’Onchocercose dans la Région du Bassin de la Volta ; 1977 (<https://iris.who.int/handle/10665/312294>).
105. Duke BOL. Studies on factors influencing the transmission of onchocerciasis. VIII. The escape of infective *Onchocerca volvulus* larvae from feeding “forest” *Simulium damnosum*. *Ann Trop Med Parasitol.* 1973;67:95–9.
106. Samba EM. The Onchocerciasis Control Programme in West Africa. Geneva: World Health Organization; 1994.
107. Duke BOL. The differential dispersal of nulliparous and parous *Simulium damnosum*. *Tropenmed Parasitol.* 1975;26:88–97.
108. Trees AJ, McCall PJ, Davies JB. On the possibility of bovine *Onchocerca* species infecting *Simulium damnosum* s.l. in the forest zone of Sierra Leone. I. Parasitological aspects. *Ann Trop Med Parasitol.* 1989;83(6):595–601.
109. Fairchild GB, Barreda EA. DDT as a larvicide against *Simulium*. *J Econ Entomol.* 1945;38:694–9.
110. Fredeen FJH. Black flies: Approaches to population management in a large temperate-zone river system. In: Kim KC, Merritt RW, editors. Black flies. Ecology, population management, and annotated world list. Philadelphia (PA): Pennsylvania State University; 1987:295–304.
111. McMahon JP, Highton RB, Goiny H. The eradication of *Simulium neavei* from Kenya. *Bull World Health Organ.* 1958;19:75–107.
112. Roberts JMD, Neumann E, Göckel CW, Highton RB. Onchocerciasis in Kenya 9, 11, and 18 years after elimination of the vector. *Bull World Health Organ.* 1967;37:195–212.
113. Lakwo TL, Garms R, Rubaale T, Katabarawa M, Walsh F, Habomugisha P et al. The disappearance of onchocerciasis from the Itwara focus, western Uganda after elimination of the vector *Simulium neavei* and 19 years of annual ivermectin treatments. *Acta Trop.* 2013;126:218–21.
114. Guide for decision making and implementation of vector control as alternative treatment strategies for elimination of onchocerciasis Ouagadougou: Onchocerciasis Control Programme in West Africa. 2015 (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/343030>).
115. Code de conduite international sur la gestion des pesticides. Rome : Organisation des Nations Unies pour l’alimentation et l’agriculture ; Genève : Organisation mondiale de la Santé ; 2014 (<https://www.fao.org/3/I3604F/i3604f.pdf>).
116. Kalinga AK, Mweya CN, Barro T, Maegga BTA. Susceptibility of *Simulium damnosum* complex larvae to temephos in the Tukungu onchocerciasis focus, southwest Tanzania. *Tanzania Health Res Bull.* 2007;9:19–24.
117. Rodríguez-Pérez MA, Garza-Hernández JA, Salinas-Carmona MC, Fernández-Salas I, Reyes-Villanueva F, Real-Najarro O et al. The Esperanza window trap reduces the human biting rate of *Simulium ochraceum* s.l. in formerly onchocerciasis endemic foci in southern Mexico. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(7):e0005686.
118. Loum D, Cozart D, Lakwo T, Habomugisha P, Jacob B, Cupp EW et al. Optimization and evaluation of the Esperanza window trap to reduce biting rates of *Simulium damnosum sensu lato* in northern Uganda. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(7):e0007558.

119. Buckley JJC. Studies on human onchocerciasis and *Simulium* in Nyanza Province, Kenya. II. The disappearance of *S. neavei* from a bush-cleared focus. *J Helminth.* 1951;25:213–22.
120. Jacob BG, Loum D, Lakwo TL, Katholi CR, Habomugisha P, Byamukama E et al. Community-directed vector control to supplement mass drug distribution for onchocerciasis elimination in the Madi mid-north focus of northern Uganda. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(8):e0006702.
121. Jacob B, Loum D, Munu D, Lakwo T, Byamukama E, Habomugisha P et al. Optimization of slash and clear community directed control of *Simulium damnosum sensu stricto* in northern Uganda. *Am J Trop Med Hyg.* 2021;104(4):1394–403.
122. Smith ME, Shakir B, Lakwo TL, Habomugisha P, Tukahebwa E, Byamukama E et al. Accelerating river blindness elimination by supplementing MDA with a vegetation “slash and clear” vector control strategy: a data-driven modeling analysis. *Sci Rep.* 2019;9:15274.

Lectures complémentaires

Adeleke M, Sam-Wabo OS, Olatunde G, Akinwale O, Ekpo U, Matiana C (2011) Bioecology of *Simulium damnosum* Theobald complex along Osun river, South West Nigeria. *J Rural Trop Public Health*. 10:39–43.

Adler P, Cheke RA, Post RJ (2010) Evolution, epidemiology, and population genetics of black flies (Diptera: Simuliidae). *Infect Genet Evol*. 10:846–65.

Boakye D (1993) A pictorial guide to the chromosomal identification of members of the *Simulium damnosum* Theobald complex in West Africa with particular reference to onchocerciasis control programme area. *Trop Med Parasitol*. 44:223–44.

Cheke RA, Garms R (2013) Indices of onchocerciasis transmission by different members of the *Simulium damnosum* complex conflict with the paradigm of forest and savanna parasite strains. *Acta Trop*. 125:42–53.

Cheke RA, Young S, Garms R (2017) Ecological characteristics of *Simulium* breeding sites in West Africa. *Acta Trop*. 167:148–56.

Corbet PS (1962) Observations on the attachment of *Simulium* pupae to larvae of Odonata. *Ann Trop Med Parasitol*. 56(2):136–40.

Cupp EW, Duke BO, Mackenzie CD, Rumbua-Guzman J, Vieira JC, Mendez-Galvan J et al. (2004) The effects of long-term community level treatment with ivermectin (Mectizan®) on adult *Onchocerca volvulus* in Latin America. *Am J Trop Med Hyg*. 71:602–7.

Disney RHL (1971) Two phoretic black-flies (Diptera: Simuliidae) and their associated mayfly host (Ephemeroptera: Heptageniidae) in Cameroon. *J Entomol A*. 46:53–61.

Duke BOL (1967) Infective filaria larvae, other than *Onchocerca volvulus*, in *Simulium damnosum*. *Ann Trop Med Parasitol*. 61:200–5.

Duke BOL, Anderson J, Fuglsang H (1975) The *Onchocerca volvulus* transmission potentials and associated patterns of onchocerciasis at four Cameroon Sudan-savanna villages. *Tropenmed Parasitol*. 26:143–54.

Duke BOL, Zea-Flores G, Castro J, Cupp EW, Munoz B (1991) Comparison of the effects of a single dose and of four six-monthly doses of ivermectin on adult *Onchocerca volvulus*. *Am J Trop Med Hyg*. 45:132–7.

Dunbar RW (1972) Polytene chromosome preparations from tropical Simuliidae. Geneva: World Health Organization (WHO/ONCHO/72.95).

Dunbar RW, Vagime CG (1981) Cytotaxonomy of the *Simulium damnosum* complex. In: Laird M, editor. *Blackflies: The future for biological methods in integrated control*. London: Academic Press;31–43.

Garms R (1978) Use of morphological characters in the study of *Simulium damnosum* s.l. populations in West Africa. *Tropenmed Parasitol*. 29:484–91.

GBD 2017 DALYs and HALE Collaborators (2018). Global, regional, and national disability-adjusted life years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 392:1859–922.

- Grunewald J (1981) Hydro-chemical and physical characteristics of the larval sites of species of the *Simulium damnosum* complex. In: Laird M, editor. Blackflies: the future for biological methods in integrated control. London: Academic Press;227–35.
- Ibeh OO, Nwoke BEB, Adegoke JA (2007) Distribution and ecology of breeding sites of *Simulium damnosum s.l.* in the south eastern primary health zone of Nigeria. Nigeria J Parasitol. 28:32–8.
- Isam M, Zarroug A, Elaagip AH, Mohamed HA, Mubarak WA, Osman KH et al. (2013) Plants associated with the aquatic stages of the onchocerciasis vector *Simulium damnosum sensu lato* in Abu Hamed and Galabat Foci in Sudan. J Public Health Epidemiol. 5:83–6.
- Lewis DJ (1953) *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the Anglo-Egyptian Sudan. Bull Entomol Res. 43:597–645.
- Lewis DJ (1957) Aspects of the structure, biology and study of *Simulium damnosum*. Ann Trop Med Parasitol. 51:340–58.
- Lewis DJ (1958) Observations on *Simulium damnosum* Theobald at Lokoja, in northern Nigeria. Ann Trop Med Parasitol. 52:216–31.
- Noma M, Nwoke BEB, Nutall I, Tambala PA, Enyong P, Namsenmo A et al. (2002) Rapid epidemiological mapping of onchocerciasis (REMO): its application by the African Programme for Onchocerciasis Control (APOC). Ann Trop Med Parasitol. 96(1):S29–39.
- Nwoke BEB, Edungbola LD, Mencias BS (1994) Human onchocerciasis in the rainforest zone southern Nigeria. 1. Rapid assessment for community diagnosis in the Imo River Basin. Nigerian J Parasitol. 15:17–8.
- Omar MS, Denke AM, Raybould JN (1979) The development of *Onchocerca ochengi* (Nematoda: Filariodea) to the infective stage in *Simulium damnosum s.l.* with a note on histochemical staining of the parasite. Tropenmed Parasitol. 30:157–62.
- Opara KN, Fagbemio OB, Ekwe A, Okenu DN (2005) Status of forest onchocerciasis in the Lower Cross River Basin, Nigeria, entomologic profile after 5 years of ivermectin intervention. Am J Trop Med Hyg. 73:371–6.
- Post RJ, Mustapha M, Krueger A (2007) An inventory of the cytospecies and cytotypes of the *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). Trop Med Int Health. 12:1342–53.
- Sékétéli A, Adeoye G, Eyamba A, Nnoruka E, Drameh P, Amazigo UV et al. (2002) The achievements and challenges of the African Programme for Onchocerciasis Control (APOC). Ann Trop Med Parasitol. 96(Suppl):515–28.
- WHO (1992) Methods for community diagnosis of onchocerciasis to guide ivermectin based control in Africa: report of an informal consultation held in Ouagadougou from 19-21 November 1991. Geneva (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/204268>).
- WHO (1995) Supplemental guidelines for rapid epidemiological mapping of onchocerciasis. Geneva (<https://tdr.who.int/docs/librariesprovider10/meeting-reports/oncho-guidelines-1995-pdf>).
- OMS (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). Genève (<https://iris.who.int/handle/10665/37354>).
- Zimmerman PA, Dadzie KY, De Sole G, Remme J, Alley ES, Unnasch TR (1992) *Onchocerca volvulus* DNA probe classification correlates with epidemiological patterns of blindness. J Infect Dis. 165:964–8.

Annexe 1. Clés taxonomiques pour les nymphes de Simuliidae africaines

AI.1. Clé de détermination des nymphes des espèces afrotropicales de *Simulium* dans les pays d'endémie de l'onchocercose

Cette clé comprend 102 espèces ; elle est adaptée de Freeman et de Meillon (1) afin d'accueillir, à partir de 2021, toutes les descriptions et tous les changements de nom postérieurs à 1953 (2), à l'exception des cyto-espèces du complexe *Simulium damnosum* (qui ne peuvent être distinguées au moyen des caractères nymphaux) et celles appartenant au sous-genre *Afrosimulium* (une espèce), ainsi que les espèces de sous-genres *Lewisellum* (une espèce) et *Phoretomyia* (13 espèces) associées aux éphémères et aux nymphes. Pour faciliter son utilisation comme « clé de terrain », les membres du sous-groupe *S. nigrirtarse* décrits après 1953 sont également exclus, mais sont traités dans une clé distincte (A1.2), qui nécessite l'analyse de préparations de lames microscopiques. Les planches correspondantes (I à VIII) illustrant les branchies nymphales des Simuliidae africaines figurent à l'Annexe 2.

Il est admis que les espèces sans référence géographique ont une vaste aire de répartition.

1. Filaments respiratoires de deux types, gros filaments primaires à paroi mince qui donnent naissance à des filaments secondaires plus fins (Planches I à III) **2**
 - Filaments d'un seul type, généralement filamenteux, bien que portés sur une longue tige chez certaines espèces (Planche V) **21**
- 2(1). De gros filaments primaires horizontaux à parois minces sont présents, enserrant souvent plus ou moins la tête et le thorax **3**
 - Tous les filaments primaires plus ou moins dressés **17**
- 3(2). Seulement deux filaments orientés vers le haut (Planche I) ; Sierra Leone, Libéria **blacklocki** Edwards
 - Plus de deux ramifications orientées vers le haut **4**
- 4(3). Les trois filaments primaires externes rigides et dressés sont simples, non ramifiés. **5**
 - Ces filaments primaires portent chacun une ou plusieurs ramifications **6**
- 5(4). Trois filaments internes simples (Planche I) ; Ouganda (Mont Elgon ; peut-être éteint ?) **cavum** Gibbins
 - Trois filaments internes fourchus (Planche I) **damnosum (complexe)** Theobald
- 6(4). Filaments primaires dressés et rigides portant une ramification ou un filament secondaire chacun **7**
 - Ces filaments primaires portant deux ou quatre filaments secondaires chacun **15**
- 7(6). L'un ou les deux filaments primaires horizontaux portant un filament secondaire court à son sommet ou médian et orienté vers le bas. **8**
 - Ni l'un ni l'autre portant un filament secondaire court au sommet **12**
- 8(7). Organe entier très volumineux (Planche I) **8**

- a) **colasbelcouri** Grenier et Ovazza
- b) **akouense** Fain et Elsen ; Cameroun
- c) **danense** Gouteux ; Côte d'Ivoire
- Organe pas comme précédemment..... **9**
- 9(8). Filaments primaires horizontaux (un ou les deux) portant des filaments secondaires courts au sommet **10**
 - Un filament primaire horizontal portant un filament secondaire court médian et orienté vers le bas. **11**
- 10(9). Chaque filament primaire horizontal portant un filament secondaire court au sommet (Planche I); Afrique du sud **letabum** de Meillon
 - Seul le filament antérieur portant un filament secondaire au sommet et celui-ci plus long (Planche I) **taylori** Gibbins
- 11(9). Filament secondaire court sur la ramification primaire horizontale dans la moitié basale (Planche I); Cameroun..... **tondewandouense** Fain et Elsen (+**crosskeyi** Lewis et Disney)
 - Filament secondaire court sur la ramification primaire horizontale dans la moitié apicale (Planche I) **ngouense** Fain et Elsen
- 12(7). Tous les filaments primaires sont exagérés, les secondaires internes sont réduits (Planche I) ... **ruandae** Fain
 - Filaments primaires plus petits..... **13**
- 13(12). Au moins un filament secondaire interne fourchu (Planche II) :
 - a) Afrique de l'Ouest : Filaments primaires et secondaires cirriformes..... **futaense** Garms et Post
 - b) République Démocratique du Congo : Organe en forme de bois de cerf..... **kingundense** Fain et Elsen
 - Aucun des filaments secondaires internes n'est fourchu..... **14**
- 14(13). Filaments secondaires minces et filamenteux (Planche II) **vorax** Pomeroy
 - Filaments secondaires externes élargis, branches des filaments primaires dressés courtes et épaisses (Planche II) ; Ouganda, Kenya **touffeum** Gibbins
- 15(6). Trois filaments externes dressés, chacun portant deux branches, huit filaments internes simples de diamètre similaire (Planche II) ; Malawi..... **zombaense** Freeman et de Meillon
 - Troncs principaux verticaux beaucoup plus robustes que les filaments internes..... **16**
- 16(15). Filament primaire central simple (Planche II ; forme générale de l'organe très variable !)) **medusaeforme** Pomeroy
 - Filament primaire fourchu :
 - (a) Filaments primaires dressés droits et effilés ou plus ou moins courbés (Planche II).... **hargreavesi** Gibbins
 - (b) Filaments primaires courts et arrondis avec un motif cuticulaire en nid d'abeille (Planche II) ; Ouganda, Kenya..... **africanum** Gibbins

- 17(2). Organe formé d'un tronc principal long :
- a) Portant 16 filaments secondaires minces (Planche II) **hissetteum** Gibbins
 - b) Portant 11 filaments secondaires minces (Planche II) **oguama** Lewis et Disney
 - Organe formé de trois ou cinq troncs principaux avec généralement plus de 16 filaments secondaires **18**
- 18(17). Organe formé de cinq troncs principaux plutôt minces, se divisant en une disposition 2,2,4,4,4 (Planche II) ; Éthiopie **jimmaense** Uemoto, Ogata et Mebrahtu
- Organe formé de trois troncs principaux portant au moins 25 filaments secondaires **19**
- 19(18). Organe respiratoire plus étalé et portant quatre filaments secondaires basaux à l'avant (Planche III)
- (a) Les trois troncs principaux dressés sont nettement gonflés, bien plus gros que les nombreux secondaires
 - (1) 31 secondaires : **arnoldi** Gibbins ; **bovis** de Meillon (Planche III) ; **chutteri** Lewis (Afrique australe)
 - (2) 36 secondaires (Planche III) **S. dawaense** Uemoto, Ogata et Mebrahtu ; Éthiopie
 - (3) 25 secondaires (Planche III) **S. fragai** Abreu ; Angola, Namibie
 - (4) environ 40 secondaires (Planche III) **S. gibense** Uemoto, Ogata et Mebrahtu ; Éthiopie - (b) Troncs principaux réduits à d'épaisses *tiges communes* (Planche III) ; République Démocratique du Congo **kwangoense** Fain et Elsen
 - Organe plus dressé portant seulement deux filaments secondaires antérieurs basaux **20**
- 20(19). Portant un long pédoncule et 24 filaments plutôt minces (Planche III) **wellmanni** Roubaud ; **janzi** Abreu (Angola)
- Sans pédoncule commun ; deux types distincts de filaments, 15 externes solides, 10 internes minces (Planche III) ; Cameroun **eouzani** Germain et Grenier
- 21(1). Organe respiratoire avec 25 à 40 filaments, abdomen sans crochets terminaux solides **22**
- Organe respiratoire avec 22 filaments ou moins **23**
- 22(21). Filaments disposés en groupes de quatre à huit sur des pédoncules courts (Planche III) ; ne vivant pas en association avec des nymphes d'éphémères (éphéméroptères) **albivirgulatum** Wanson et Henrard
- Filaments non disposés en groupes de quatre à huit ; vivant en association avec des nymphes d'éphémères sous-genre *Phoretomyia*
- 23(21). Filaments courts et épais avec un extrémité noire **24**
- Filaments sans extrémité noire **28**
- 24(23). Certains filaments beaucoup plus courts que d'autres, ou un filament réduit à un moignon basal **25**
- Tous les filaments à peu près de la même taille **26**
- 25(24). Huit filaments, quatre longs et quatre courts (Planche IV) ; Ouganda **octospicae** Gibbins
- Neuf filaments longs égaux et un moignon (Planche IV) **kauntzeum** Gibbins
 - 15 filaments, dont six beaucoup plus courts (Planche IV) ; Côte d'Ivoire **voltae** Grenier, Ovazza et Valade

- 26(24). Filaments au nombre de 14, cuticule sans nodules noirs (Planche IV)..... **nili** Gibbins
 - Si 14 filaments sont présents, alors cuticule recouverte de nodules noirs..... **27**
- 27(26). 18 filaments (Planche IV)..... **bisnovem** Gibbins
 - 17 filaments (Planche IV) ; Éthiopie..... **shoae** Grenier et Ovazza
 - 14 filaments (Planche IV ; très variable !) **dentulosum (groupe)** Roubaud
 - 12 filaments (Planche IV) ; Rwanda..... **ngabogei** Fain
 - 11 filaments (Planche IV) ; Zimbabwe **rhodesiense** de Meillon
 - 10 filaments (Planche IV) ; Ouganda..... **masabae** Gibbins
 - Sept filaments (Planche IV) ; République Démocratique du Congo **heptaspicae** Gouteux
 - Quatre filaments (Planche IV) **berghei** Fain ; **spinulicorne** Fain et Elsen
- 28(23). Organe respiratoire composé de quatre filaments seulement..... **29**
 - Filaments non au nombre de quatre..... **36**
- 29(28). Filaments divergents..... **30**
 - Les filaments peuvent diverger à la base, mais au moins trois sont ensemble à l'apex..... **33**
- 30(29). Filaments soit filamenteux étroits et effilés, soit larges à la base et fortement effilés ou étirés à leur extrémité, un ou deux peuvent se projeter vers l'arrière..... **31**
 - Filaments larges, de largeur régulière ou légèrement effilés, à sommets émoussés ou arrondis, tous projetés plus ou moins vers le haut
 (a) et portant des réticulations superficielles (Planche V)..... **duboisii** Fain
 (b) sans réticulations (Planche V)..... **ruficorne** Marquart
- 31(30). Filaments uniformément effilés, deux projetant vers l'avant et deux vers l'arrière (Planche V) **katangae** Fain
 - Certains sont au moins très effilés, généralement l'un projeté vers l'arrière (Planche V)..... **32**
- 32(31). Surface de filament réticulée ; Rwanda..... **fusicorne** Fain
 - Surface de filament non réticulée..... **buckleyi** de Meillon
- 33(29). Filaments courts et épais, filament antérieur séparé des autres à la base (Planche V), portant des stries croisées proéminentes **34**
 - Filaments plus longs et moins épais **35**
- 34(33). Filament postérieur parallèle au voisin à la base (Planche V) ; Tanzanie **hirsutilateralis** de Meillon
 - Filament postérieur divergent à la base (Planche V) **manense** Elsen et Escaffre
- 35(33). Filament antérieur fortement courbé (Planche V), trichomes longs et sinueux..... **rutherfordi** de Meillon
 - Filament antérieur généralement non courbé (Planche V) ; le cas échéant, généralement pas si fortement (voir A1.2), trichomes courts et presque droits..... **nigritarse (sous-groupe)** Coquillet

36(28). Filaments portés par une longue tige commune	37
- Filaments non portés par une longue tige commune	42
37(36). Tige large et non effilée (Planche V), avec une tige de renforcement interne.....	38
- Pédoncule plus étroit ou effilé.....	39
38(37). Huit filaments terminaux (Planche V).....	mcmahoni de Meillon
- 12 filaments terminaux (Planche V) ; Éthiopie, Botswana.....	awashense Uemoto, Ogata et Mebrahtu
39(37). Pédoncule effilé (Planche V) et orné de courtes lignes sombres.....	bequaerti Gibbins
- Pédoncule de largeur égale et moins orné	40
40(39). Dix filaments terminaux à disposition 3,2,3,2 (Planche V)	coalitum Pomeroy
- Huit filaments terminaux.....	41
41(40). Filaments disposés par paires (Planche V).....	schoutedeni Wanson
- Filaments à disposition 2,1,1,2,2 (Planche V) ; Cameroun	audreyae Garms et Disney
42(36). Organe respiratoire comportant un, deux ou trois filaments ou divisions	43
- Organe respiratoire comportant plus de trois filaments ou divisions	50
43(42). Un seul filament long et effilé fixé à la base de la nymphe (Planche V) ; Afrique australe.....	harrisoni Freeman et de Meillon
- Organe respiratoire pas comme précédemment	44
44(43). Organe respiratoire tubulaire ou en forme de tonneau fixé sur environ 1/3 de sa longueur à la nymphe.	45
- Organe respiratoire comportant deux ou trois branches ou divisions	47
45(44). Organe respiratoire en forme de tonneau (Planche V).....	rotundum Gibbins
- Organe respiratoire – tubulaire-allongé.....	46
46(45). Organe respiratoire en forme de croissant tubulaire (Planche V).....	unicornutum Pomeroy
- Organe respiratoire présentant des constriction sur toute sa longueur (Planche V)	palmeri Pomeroy
47(44). Organe respiratoire comportant deux éléments cylindriques courts et verticaux (Planche V).....	bifila Freeman et de Meillon
- Organe respiratoire comportant trois branches ou divisions.....	48
48(47). Filaments aplatis, en forme de feuille, à bord irrégulier, dirigés vers l'avant, plutôt volumineux (Planche VI, a+b).....	griseicolle Becker
- Filaments pas comme précédemment	49
49(48). Filaments courts, cylindriques et rigides (Planche VI) ; tubercules sur le thorax remplacés par de longues épines pointues.....	tridens Freeman et de Meillon

- Organe respiratoire formé de trois sphères (Planche VI) avec ou sans filaments apicaux ; République Démocratique du Congo **trisphaerae** Wanson et Henrard
- 50(42). Organe respiratoire formé de sept cylindres portés par des pédoncules étroits et chacun comportant un ou deux filaments minces à l'apex (Planche VI) ; une seule nymphe connue (République démocratique du Congo) **schwetzi** Wanson
 - Organe respiratoire pas comme précédemment **51**
- 51(50). Organe respiratoire rigide, dressé, branches maintenues dans le plan antéro-postérieur, souvent en forme de bois de cerf **52**
 - Organe respiratoire comportant des filaments plus allongés et sinueux, généralement non maintenus dans un seul plan **54**
- 52(51). Organe entier trapu, branches réduites :
 - a) Branches arrondies à l'apex, organe dressé (Planche VI) ; République Démocratique du Congo **vangilsi** Wanson
 - b) Branches recourbées vers le bas, pseudo-annulées (Planche VI) ; Cameroun **leberrei** Grenier, Germain et Mouchet
 - Organe respiratoire portant des branches plus allongées **53**
- 53(52). Huit ou neuf branches terminales, chaque branche étant unique (Planche VI) **cervicornutum** Pomeroy
 - Chaque branche bifide apicalement (Planche VI), Rwanda **aureliani** Fain
 - Tronc robuste, s'élargissant à la base et 2 branches principales se divisant en 8 : antérieure avec trois filaments distincts, postérieure avec deux primaires fourchues distalement (3,2) et s'étendant loin en arrière pour recouvrir l'abdomen (Planche VI) ; Cameroun **ekomei** Lewis et Disney
- 54(51). Organe respiratoire comportant 20 filaments (Planche VI) **tentaculum** Gibbins
 - Moins de 20 filaments présents **55**
- 55(54). Six filaments présents **56**
 - Plus de six filaments **57**
- 56(55). Cocon simple, sans col. Six filaments sous-parallèles (Planche VI) **sexiens** de Meillon
 - Cocon au col bien développé. Six filaments partiellement étalés **loutetense** Grenier et Ovazza
- 57(55). Organe respiratoire comportant sept filaments (Planche VIc) **alcocki (groupe)** Pomeroy
 - Plus de sept filaments **58**
- 58(57). Organe respiratoire comportant huit filaments **59**
 - Plus de huit filaments **64**
- 59(58). Filaments issus par paires d'une tige commune assez longue :
 - a) Se reporter au couplet 36 (Planche V) **schoutedeni** Wanson
 - B Se reporter au couplet 57 (Planche VI c+d) **alcocki (groupe)** Pomeroy
 - Filaments avec une tige plus courte **60**

- 60(59). Filaments disposés en quatre paires sur des pédoncules courts **61**
 - Filaments pas comme précédemment **62**
- 61(60). Une paire placée sur la face interne (Planche VI), cocon simple ; Rwanda, République démocratique du Congo **rodhaini** Fain ; **nyaense** Gouteux
 - Tous disposés plus ou moins dans le même plan (Planche VI), cocon avec col **kenyae** de Meillon
- 62(60). Filaments ramifiés 3, 3, 2 **63**
 - Filaments ramifiés 2, 4, 2 (pas de figure) **alcocki (groupe)** Pomeroy
- 63(62). Nymphes vivant en association avec des crabes d'eau douce (Planche VII) **neavei (groupe)** Roubaud
 - Nymphes ne vivant pas en association. 8 filaments (Planche VII) **hirsutum** Pomeroy ; **urundiense** Fain (Burundi)
- 64(58). Portant 10 filaments **65**
 - Portant plus de 10 filaments **67**
- 65(64). Deuxième série de bifurcations situées au-delà du milieu de l'organe entier (Planche VII) **garmsi** Crosskey
 - Deuxième série de bifurcations plus basales **66**
- 66(65). Filaments souvent de tailles différentes (Planche VII), organe entier pas particulièrement étalé **djallonense** Roubaud et Grenier ; **johanna** Wanson
 - Filaments toujours de taille à peu près égale (Planche VII)
 a) Organe entier plutôt étalé :
 a. Répandu : **impukane** de Meillon
 b. République démocratique du Congo, Ouganda : **ituriense** Fain
 c. Libéria, Côte d'Ivoire : **liberiense** Garms
 b) Organe moins étalé :
 a. République Démocratique du Congo : **bayakorum** Fain et Elsen ; **mayumbense** Fain et Elsen ; **multiclavatum** Fain, Elsen et Dujardin
 b. République-Unie de Tanzanie, Éthiopie : **geigy** Garms et Häusermann ; **weyeri** Garms et Häusermann
- 67(64). 11 filaments présents (Planche VIII) **adersi** Pomeroy
 - Plus de 11 filaments **68**
- 68(67). 12 filaments présents **69**
 - Plus de 12 filaments présents **70**
- 69(68). Filaments disposés par paires avec des pédoncules courts (Planche VIII) **duodecimum** Gibbins
 - Filaments à disposition 3,2,3,4 (Planche VIII), pédoncules plus longs ; République Démocratique du Congo **allaeri** Wanson
- 70(68). 15 filaments présents (Planche VIII) ; Congo **evillense** Fain, Hallot et Bafort
 - 19 filaments (Planche VIII) ; République Démocratique du Congo **gilleti** Fain et Hallot

Espèces de la région afrotropicale continentale non incluses :

- S. gariense* de Meillon (1953) ; Afrique australe uniquement (monotype du sous-genre *Afrosimulium*)
- S. atyophilum* Louis et Disney (1969) ; sur les nymphes d'éphémères (*Lewisellum*)
- S. afronuri* Louis et Disney (1970) ; Cameroun uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. baetiphilum* Lewis et Disney (1972) ; Cameroun uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. bernerii* Freeman (1954) ; sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. copleyi* Gibbins (1941) ; Afrique de l'Est, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. diceros* Freeman et de Meillon (1953) ; République démocratique du Congo uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. dukei* Lewis, Disney et Crosskey (1969) ; Cameroun uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. kumboense* Grenier, Germain et Mouchet (1966) ; Cameroun uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. lumbwanum* de Meillon (1944) ; sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. marlieri* Grenier (1950) ; République Démocratique du Congo uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. melanocephalum* Gouteux (1978) ; République Démocratique du Congo uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. moucheti* Gouteux (1977) ; République Démocratique du Congo uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. rickenbachi* Germain, Grenier et Mouchet (1966) ; Cameroun uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)
- S. zairensis* Gouteux (1977) ; République Démocratique du Congo uniquement, sur les nymphes d'éphémères (*Phoretomyia*)

A1.2. Sous-groupe *Simulium nigritar* (à partir des références 3 et 4)

1. Parois de filaments avec un réticulum fortement surélevé (type 1) visible même à faible grossissement. **2**
 - Filaments sans réticulum aussi fortement relevé. Un réticulum incomplet et légèrement surélevé est cependant présent chez *S. antibrachium*, *S. raybouldi* et *S. perforatum*..... **6**
2. Filaments aux parois épaisses fortement sclérifiées et brun foncé ou noirâtre. Surface dorsale du thorax et de la tête des nymphes recouvertes de saillies en forme d'épine..... **3**
 - Filaments aux parois peu épaisses ou sclérifiées, plus pâles. Surface dorsale du thorax et de la tête des nymphes principalement ou exclusivement recouverte de tubercules en forme de disque **4**
3. Les quatre filaments sont très épais et relativement courts. Ils sont directement issus de la base et fortement divergents. Longueur totale des branchies nymphales de 2 mm. Cocon finement tissé sans processus antéro-médian (voir couplet 32 de la clé principale) **duboisii** Fain
 - Les quatre filaments sont plus minces et plus longs. Ils sont issus de 2 tiges basales assez épaisses mesurant respectivement 300 et 500 µ de long. Longueur totale des branchies nymphales de 3 mm. Cocon tissé lâchement avec un processus antéro-médian. Kenya..... **aspericorne** Fain, Bafort et Silberstein

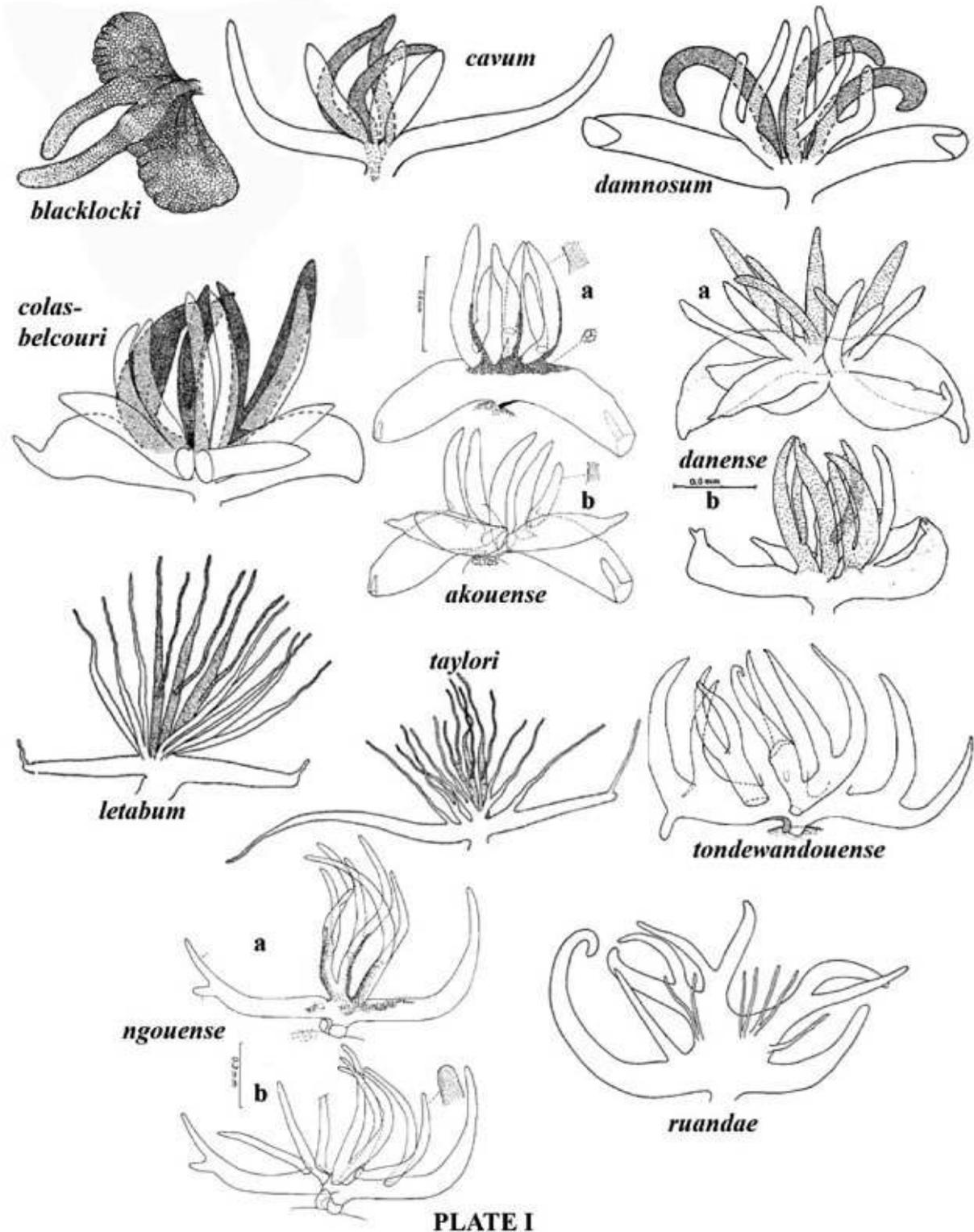
4. Les quatre filaments sont directement issus de la base et disposés étroitement..... **5**
 - Les quatre filaments sont issus de 2 tiges secondaires généralement inégales (Planche V). Cocon finement tissé sans fenêtres, absence de processus médian..... **aureosimile** Pomeroy
5. Vésicule basale très volumineuse et plus longue que le tronc basal. Poils de la plaque pileuse très longs et gonflés apicalement. Cocon avec fenêtres latérales **bulbiferum** Fain et Dujardin
 - Vésicule basale petite et plus courte que le tronc basal. Poils de la plaque pileuse plus courts et pas gonflés apicalement. Cocon finement tissé sans fenêtres. Rwanda, République démocratique du Congo **rubescens** Fain et Dujardin
6. Parois des filaments présentant des structures piliformes surélevées très courtes disposées soit selon des lignes transversales (type 2), soit selon des lignes transversales et obliques formant parfois un réticulum incomplet et légèrement surélevé (intermédiaire entre les types 1 et 2) **7**
 - Parois des filaments présentant des structures très courtes et légèrement surélevées ne formant pas de motif distinct **11**
7. Parois des filaments avec un motif de lignes transversales en relief (type 2). Les quatre filaments sont directement issus de la base et restent parallèles. Cocon à rebord mais dépourvu de processus médian. Tronc basal très court **8**
 - Parois des filaments présentant des lignes transversales et obliques formant parfois un ensemble incomplet, réticulum légèrement surélevé (intermédiaire entre les types 1 et 2)..... **9**
8. Tronc basal orange vif, comprimé latéralement et élargi dorso-ventralement, portant de petits tubercules arrondis et surélevés. Vésicule basale plus petite. Cocon finement tissé, non renforcé par des fils épais. Rwanda, République-Unie de Tanzanie..... **flavinotatum** Fain et Dujardin
 - Tronc basal brunâtre, aplati dorso-ventralement et élargi latéralement, portant de plus nombreuses structures arrondies non surélevées. Vésicule basale plus grande. Cocon fortement renforcé par de nombreux fils irréguliers, épais ou fins **simplex** Gibbins
9. Base des branchies nymphales mesurant environ 600 μ de long. Cocon portant un large processus antéro-médian. Plaque pileuse avec tous les poils ramifiés. Tanzanie **raybouldi** Fain et Dujardin
 - Base des branchies nymphales mesurant moins de 400 μ de long. Cocon dénué de processus antéro-médian. Tous les poils de la plaque pileuse sont simples **10**
10. Cocon tissé à structure lâche portant des fenêtres dans les parties latérales et antérieures. Le filament supérieur décrit une courbe dorsale distincte légèrement angulaire **perforatum** Fain et Dujardin
 - Cocon finement tissé sans fenêtres :
 (1) Le filament inférieur décrit une large courbe ventrale. Tronc basal court. Cameroun, Kenya **antibrachium** Fain et Dujardin
 (2) Le filament supérieur s'apparie avec le suivant pour décrire une courbe dorsale distincte légèrement angulaire. Tronc basal court. Ouganda..... **bwambanum** Krueger
 (3) Les quatre filaments sont directement issus du tronc basal et ne décrivent aucune angulation ni étalement. Tronc basal mesurant 300 à 390 μ de long. Ouganda..... **itwariense** Krueger
11. Parois des filaments présentant des structures très courtes et irrégulièrement arrondies (type 4). Les quatre filaments sont directement issus de la base. Vésicule basale fortement développée, sacciforme, plus longue que le tronc basal. Poils de la plaque pileuse très longs et en forme de pilon. Cocon finement tissé. Rwanda, Burundi..... **sacculiferum** Fain et Dujardin

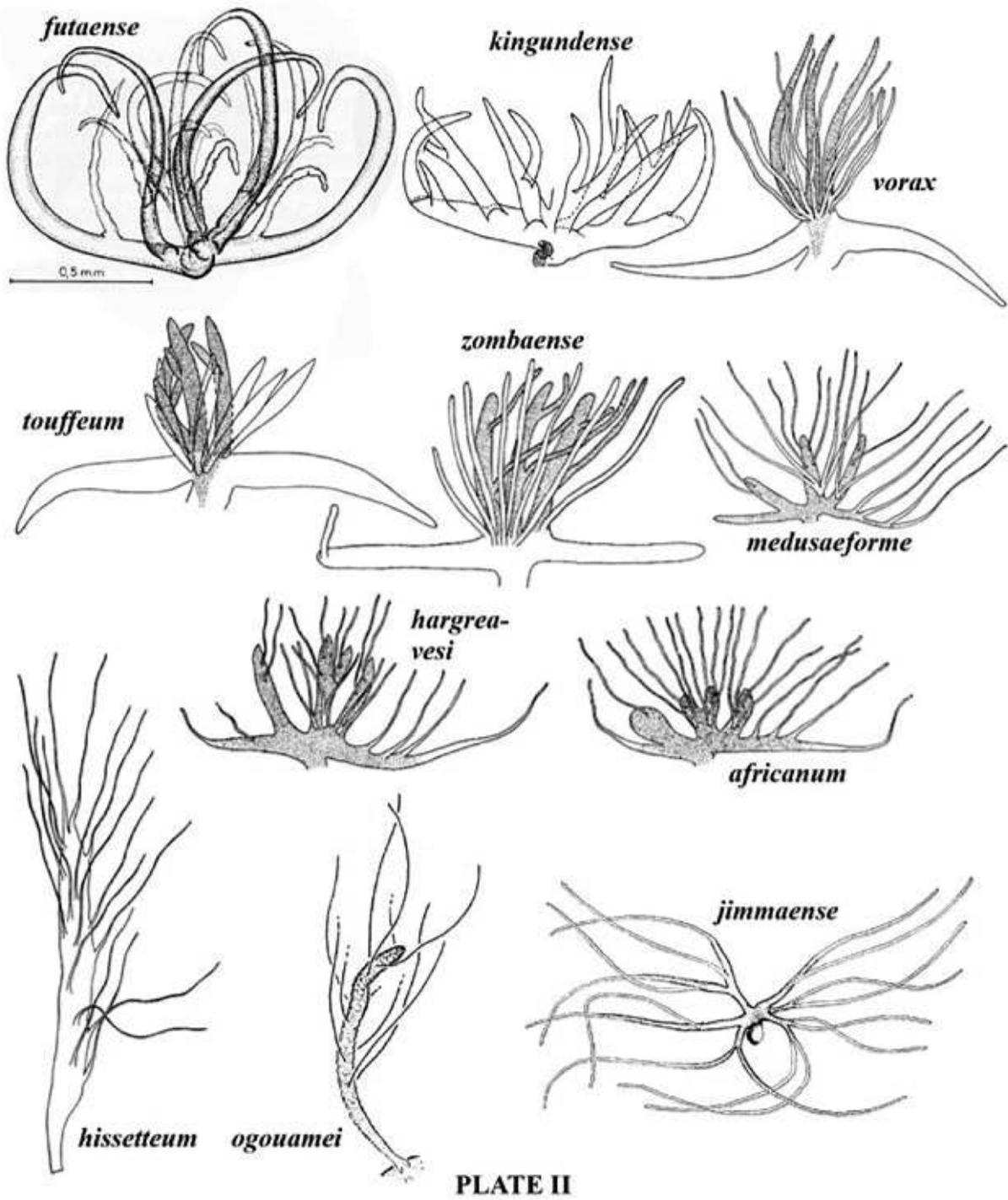
- Parois des filaments présentant de très courtes structures piliformes (type 3). Les quatre filaments sont issus soit directement de la base, soit de troncs secondaires. Vésicule basale moins développée, non sacciforme. Poils de la plaque pileuse beaucoup plus courts et non gonflés apicalement..... **12**
- 12. Base des branchies nymphales mesurant 270 à 400 μ de long et plus de 27 fois plus longue que sa largeur au milieu du tronc..... **13**
 - Base des branchies nymphales ne mesurant pas plus de 200 μ et pas plus de deux fois plus longue que large..... **15**
- 13. Cocon très large, transparent, portant un processus antéro-médian court et arrondi et renforcé latéralement par d'épais fils transversaux évidents. Kenya **alatum** Fain et Dujardin
 - Cocon plus étroit, non renforcé par d'épais fils transversaux, avec un bord antérieur pas ou légèrement renflé..... **14**
- 14. Tronc basal plus de trois fois plus long (380 à 400 μ) qu'il n'est large (120 μ). Bord antérieur du cocon légèrement renflé. Kenya **nyanzense** Fain et Dujardin
 - Tronc basal environ 2,7 fois plus long (270 μ) qu'il n'est large (100 μ). Bord antérieur du cocon non renflé. Kenya..... **baforti** Fain et Dujardin
- 15. Les quatre filaments sont issus de deux tiges secondaires et sont fortement inégaux : l'un est relativement très court, l'autre est nettement plus long que les autres et deux sont inégaux et de longueur intermédiaire. Tous les poils de la plaque pileuse sont bifides ou trifides. Cocon finement tissé..... **nigritarse** Coquillet
 - Les quatre filaments sont soit directement issus de la base, soit deux sont issus d'une tige courte et les autres directement de la base. Les quatre filaments sont de longueur quasiment égale. Poils de la plaque pileuse simples, sauf chez *S. sirimonense* qui présente un poil bifide **16**
- 16. Les deux filaments dorsaux sont issus d'une tige commune nettement divergente des autres. Le filament supérieur décrit une courbe angulaire. Cocon finement tissé **arabicum** Crosskey
 - Les quatre filaments sont directement issus de la base, ils s'étalent à leur base mais le filament supérieur n'est jamais angulé **17**
- 17. Seul le filament supérieur décrit une large courbe régulière. Cocon tissé à structure lâche portant des fenêtres..... **brachium** Gibbins
 - Les filaments supérieurs et inférieurs décrivent une courbe régulière **18**
- 18. Filaments supérieurs et inférieurs de direction presque opposée. Cocon finement tissé. Tanzanie **candelabrum** Fain et Dujardin
 - Filaments supérieurs et inférieurs beaucoup moins divergents. Cocon tissé très lâche portant de grandes fenêtres. Kenya, Ouganda **sirimonense** Fain et Dujardin

A1.3 Références bibliographiques

1. Freeman P, de Meillon B. Simuliidae of the Ethiopian region. London: British Museum (Natural History); 1953.
2. Adler P. World blackflies (Diptera: Simuliidae): A comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory. Clemson (SC): Clemson University; 2021 (<https://biomia.sites.clemson.edu/pdfs/blackflyinventory.pdf>).
3. Fain A, Dujardin JP. The *Simulium nigrিতarse* complex (Diptera: Simuliidae). Rev Zool Afri. 1983;97(2):379-452.
4. Krueger A. The *Simulium nigrিতarse* subgroup (Diptera: Simuliidae) in Uganda: New species and country records. Zootaxa. 2016;4121(1):59-67.

Annex 2. Illustrations des filaments respiratoires (branchies) de nymphes de simulies africaines





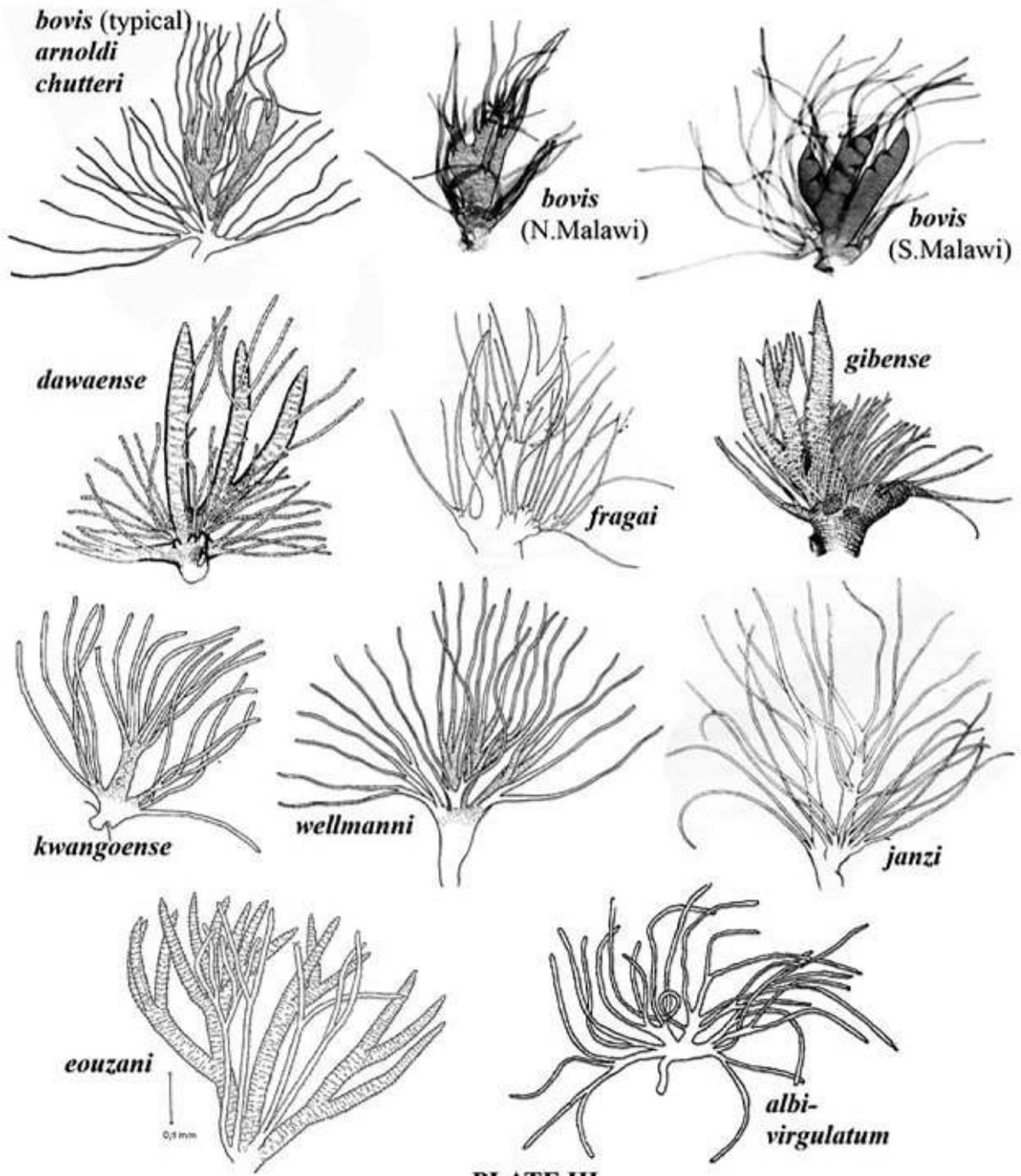


PLATE III

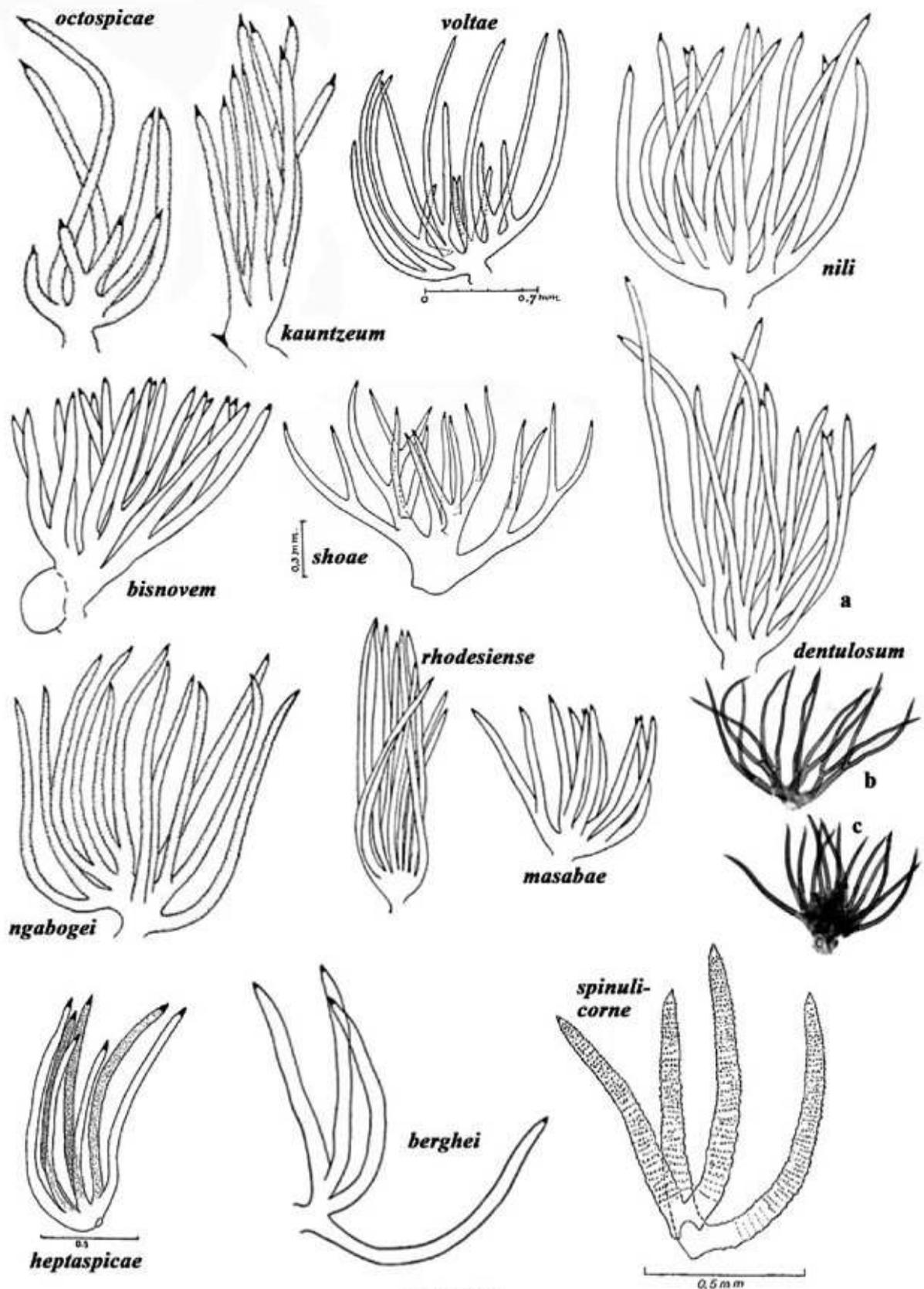
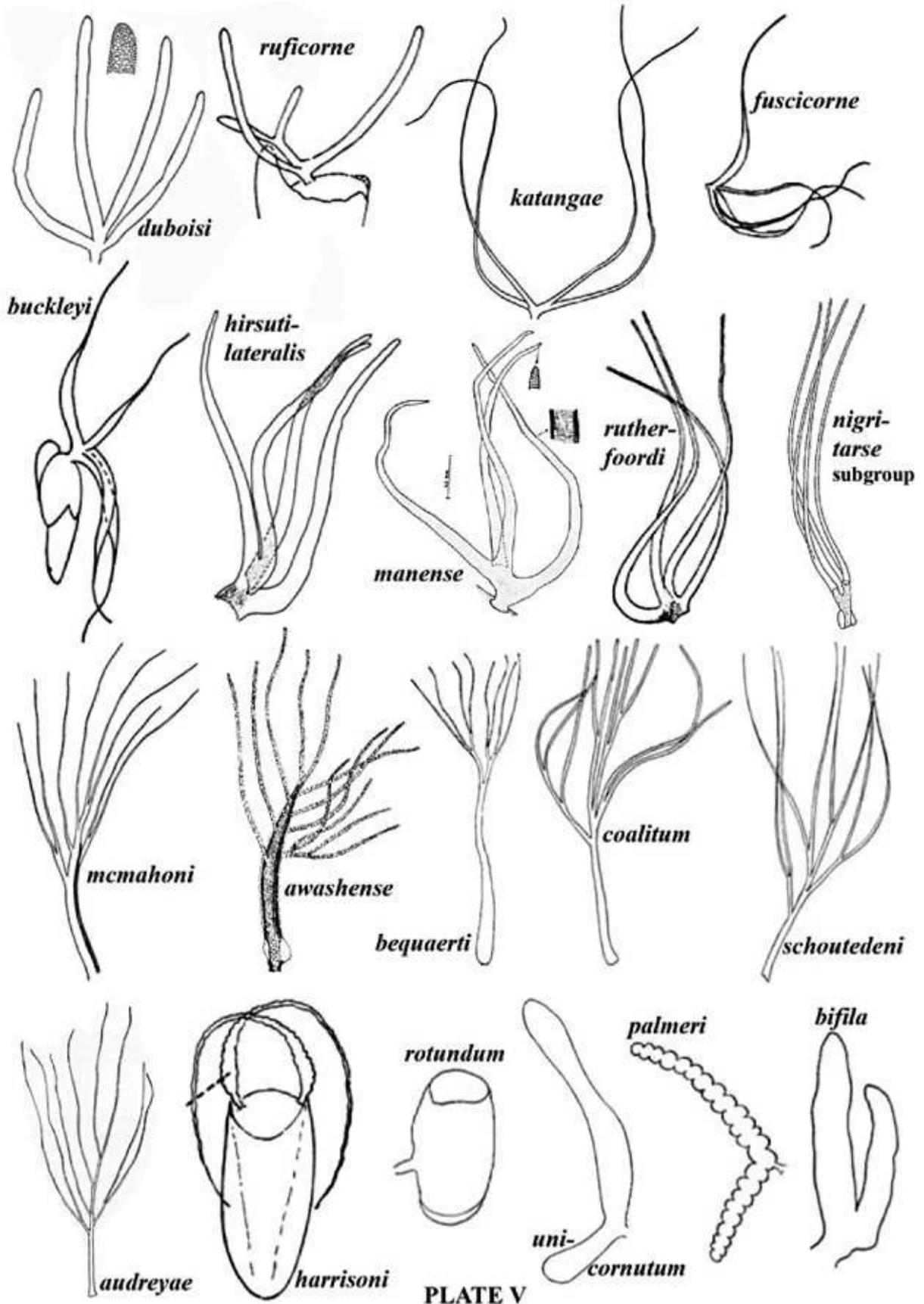


PLATE IV



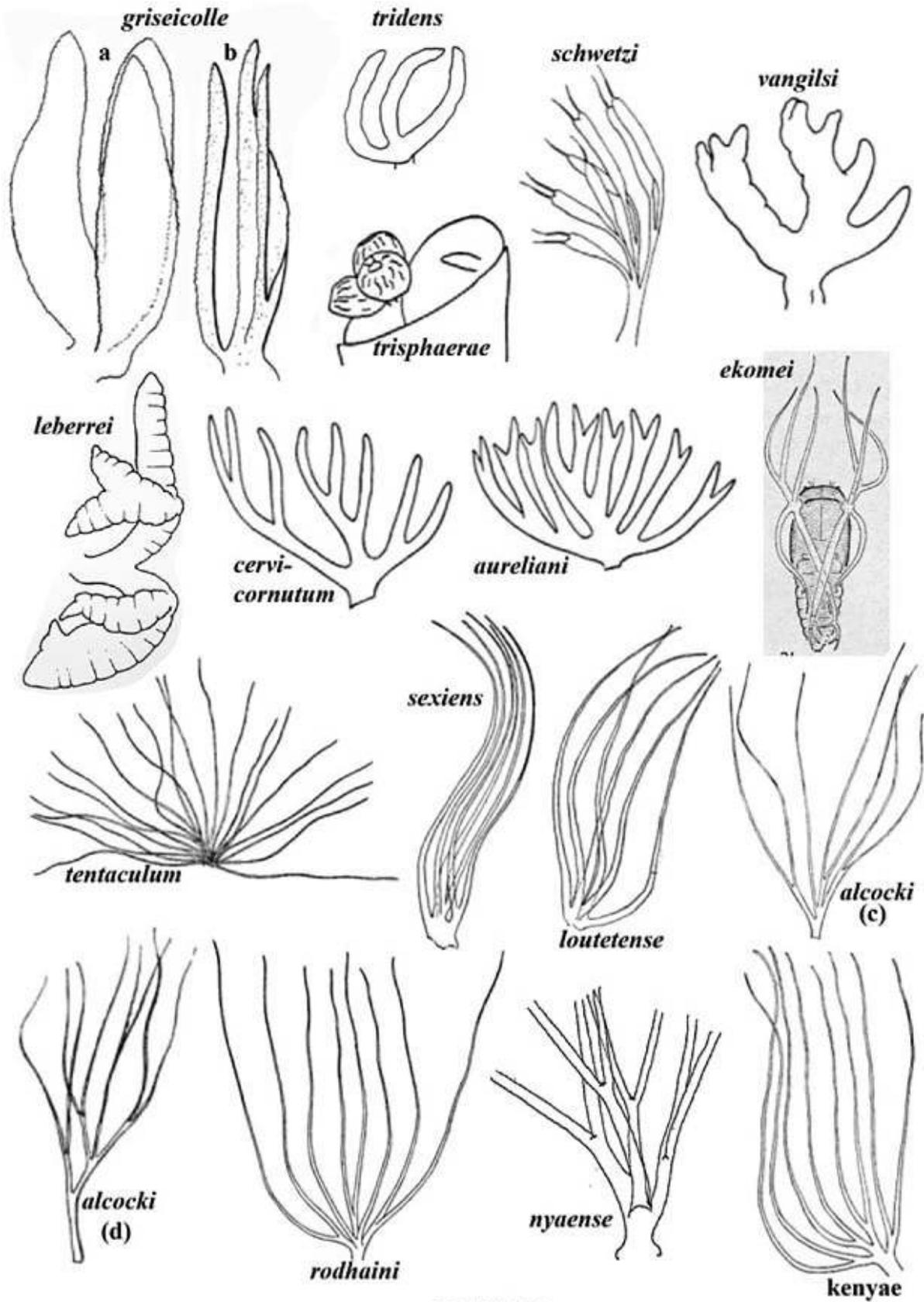
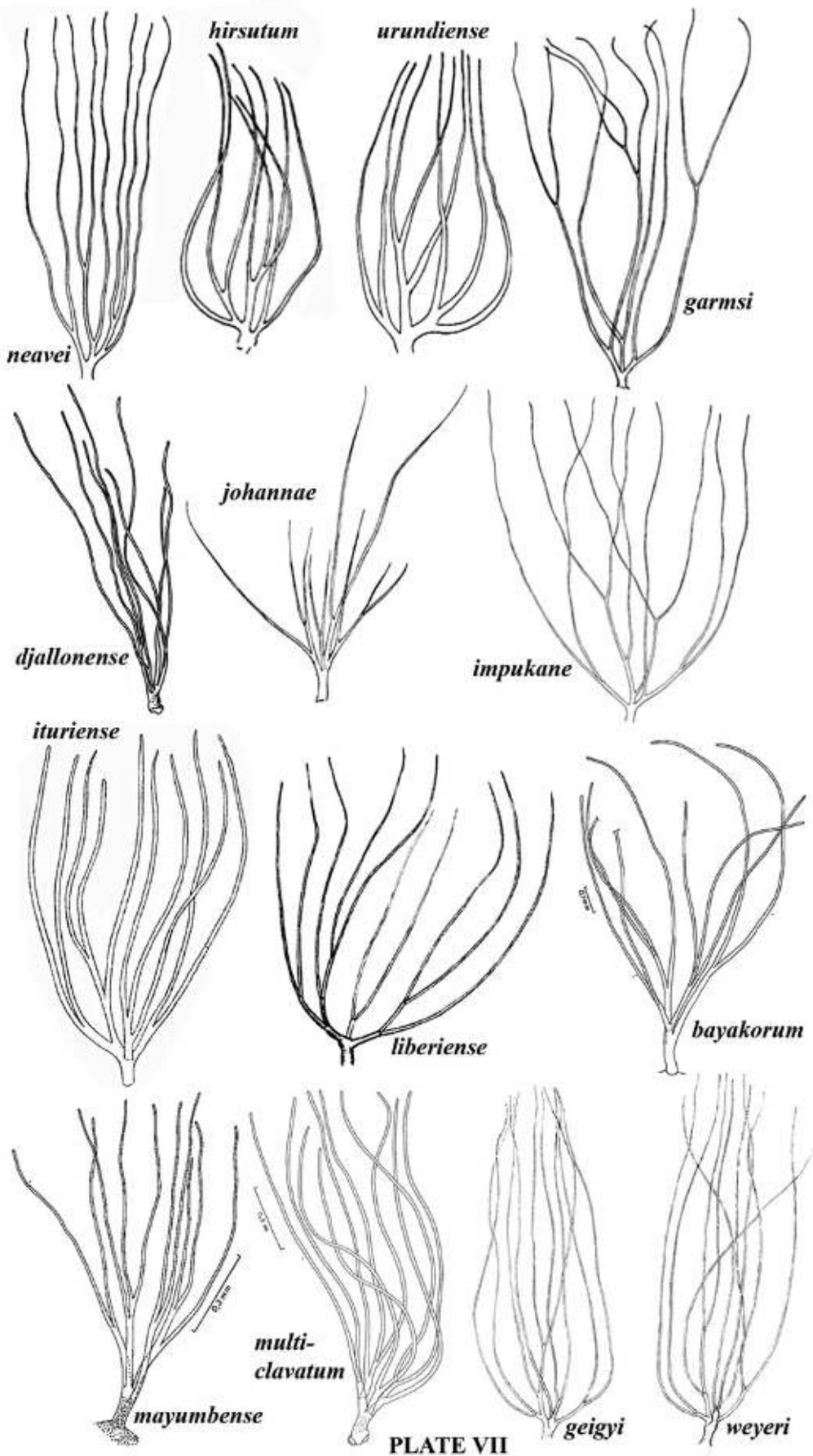
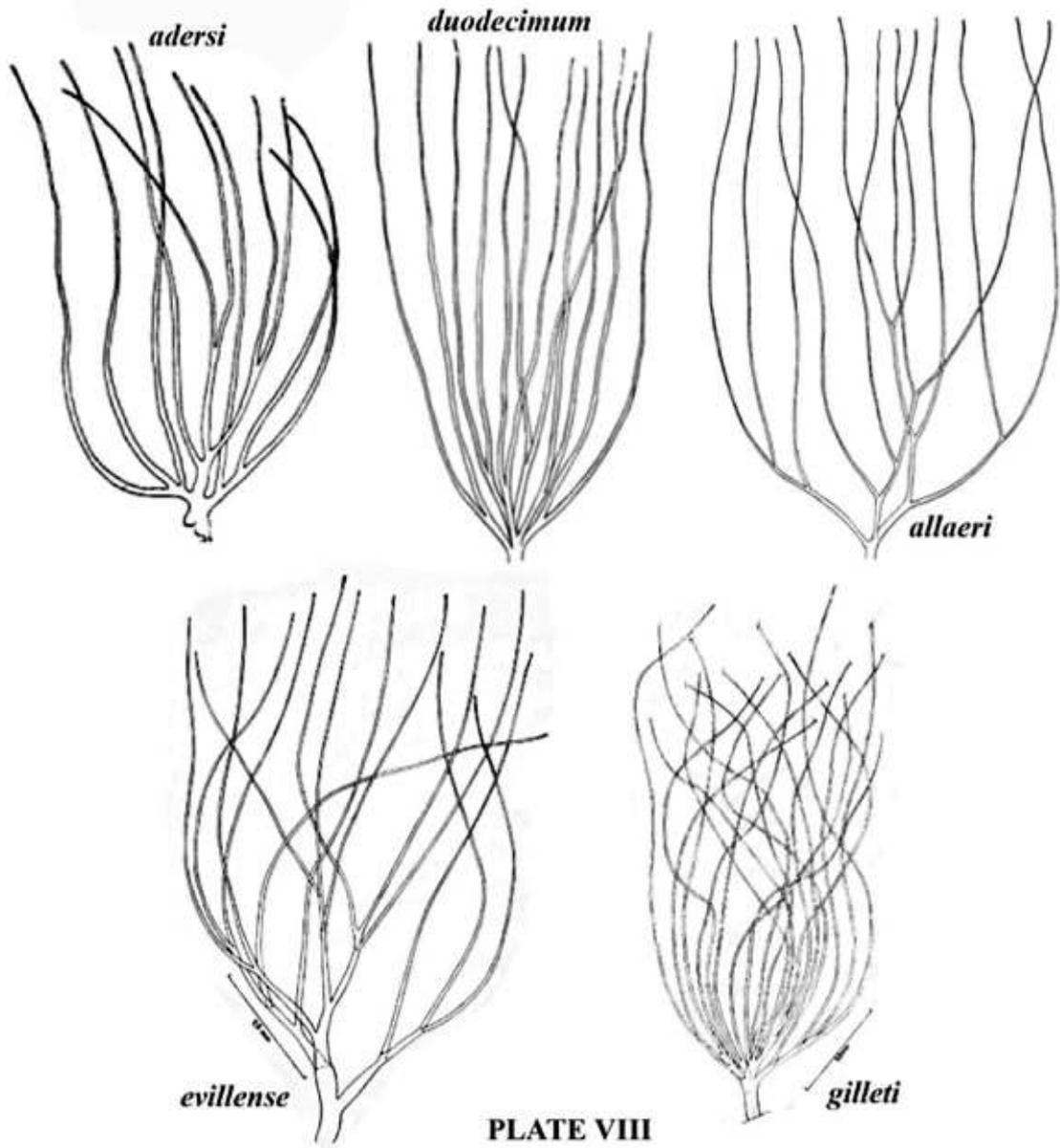


PLATE VI





Pour plus d'informations, contacter :
Programme mondial de lutte contre les
maladies tropicales négligées
Organisation mondiale de la Santé
20 Avenue Appia
1211 Genève 27
Suisse

Site Web : <https://www.who.int>

