



UNIVERSITE
JEAN LOROUGNON GUEDE
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2017-2018

N° D'ORDRE :

.....

CANDIDAT

Nom : SIMARO

Prénoms : SIRIKI

THESE DE DOCTORAT

Mention : Biologie Santé

Spécialité : Génétique

Contribution à l'étude de la diversité génétique et la capacité vectorielle des populations de *Simulium damnosum* s.l à l'aide de marqueurs microsatellites dans trois faciès épidémiologiques de l'onchocercose en Côte d'Ivoire

JURY

Présidente : Mme. TIDOU Abiba Sanogo épouse KONE, Professeur titulaire, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : M. KOFFI N'Goran Mathurin, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : M. GONEDELE Bi Séry Enerst, Maître de Conférences, Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

Examineur : M. YAPI Yapi Grégoire, Maître de Recherches, Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire

Examineur : M. AYOLIE Koutoua, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Soutenu publiquement

le : 19 / 11 / 2019

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	i
DEDICASE	vii
AVANT-PROPOS	viii
REMERCIEMENTS	ix
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	xii
LISTE DES TABLEAUX	xvi
LISTE DES FIGURES	xvii
LISTE DES ANNEXES	xviii
INTRODUCTION	1
I- GENERALITES	5
I-1- ONCHOCERCOSE.....	6
I-1-1- Historique	6
I-1-2- Maladie.....	7
I-1-2-1- Définition	7
I-1-2-2- Manifestation clinique de l'onchocercose	7
I-1-2-2-1- Période de prépatence et d'incubation	7
I-1-2-2-2- Période d'état.....	8
I-1-3- Diagnostic de l'onchocercose.....	11
I-1-3-1- Signes et symptômes	11
I-1-3-2- Diagnostic parasitologique	11
I-1-3-3- Autres tests de diagnostics	12
I-1-3-3-1- Test de Mazzotti	12
I-1-3-3-2- Test du pansement à la diéthylcarbamazine (DEC patch test).....	13
I-1-3-3-3- Test de diagnostic rapide de l'onchocercose.....	13
I-1-4- Traitement de l'onchocercose.....	13
I-1-4-1- Nodulesctomie systématique.....	13
I-1-4-2- Chimiothérapie de l'onchocercose	14

Table des matières

I-1-4-2-1- Diéthylcarbamazine citrate (DEC).....	14
I-1-4-2-2- Ivermectin.....	14
I-1-4-2-3- Suramine.....	15
I-1-4-2-4- Albendazole.....	16
I-1-4-2-5- Antibiotiques	16
I-1-4-2-6- Moxidectine	17
I-2- VECTEUR	17
I-2-1-1- Taxonomie et distribution des vecteurs.....	18
I-2-1-1-1- Systématique de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	18
I-2-1-1-2- Distribution des espèces de <i>Simulium damnosum</i> s.l en Afrique de l’Ouest.....	18
I-2-1-2- Complexe <i>Simulium damnosum</i> s.l en Côte d’Ivoire	19
I-2-3- Biologie de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	20
I-2-3-1- Cycle de vie de <i>Simulium damnosum</i> s.l.	20
I-2-3-2- Morphologie des différentes formes	22
I-2-4- Anatomie de la femelle de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	25
I-2-5- Déplacements des simulies	25
I-2-5-1- Déplacements de faible et moyenne amplitudes	26
I-2-5-2- Déplacements de grande amplitude	27
I-2-6- Surveillance entomologique	27
I-2-7- Indicateurs entomologiques	28
I-2-8- Dynamique des populations de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	28
I-2-8-1- Evolution des populations de vecteurs	28
I-2-8-2- Activité de piqûres des femelles de <i>Simulium damnosum</i> s.l.	29
I-2-8-3- Préférences trophiques des simulies	30
I-3- PARASITE	30
I-3-1- Systématique d’ <i>Onchocerca volvulus</i>	30
I-3-2- Identification morphologique des microfilaires et de la forme adulte	31
I-3-2-1- Microfilaires.....	31
I-3-2-2- Formes adultes	32
I-3-3- Cycle de développement du parasite	33
I-3-3-1- Différents stades d’ <i>Onchocerca volvulus</i> au cours du cycle parasitaire	33
I-3-2-2- Relation vecteur / parasite.....	36
I-4- EPIDEMIOLOGIE DE L’ONCHOCERCOSE.....	36

I-4-1- Différents faciès épidémiologiques.....	36
I-4-2- Répartition de la maladie en Afrique	37
I-4-3- Situation épidémiologique de l'onchocercose en Côte d'Ivoire	38
I-5- EVOLUTION DES MODALITES DE LUTTE CONTRE L'ONCHOCERCOSE.....	41
I-5-1- Lutte antivectorielle.....	41
I-5-2- Programmes de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest.....	41
I-5-3- Programme de donation du Mectizan	42
I-5-4- Programme africain de lutte contre l'onchocercose	44
I-5-5- Répulsifs antisimulidiens	44
I-6- GENETIQUE DES POPULATIONS NATURELLES	45
I-6-1- Définition et contexte d'étude	45
I-6-2- Terminologie de base	45
I-6-3- Diversité génétique.....	46
I-6-3-1- Définition.....	46
I-6-3-2- Marqueurs génétiques utilisés dans l'estimation de la diversité génétique.....	46
I-6-3-2-1- Marqueurs morphologiques.....	46
I-6-3-2-2- Marqueurs biochimiques.....	47
I-6-3-2-3- Marqueurs moléculaires	47
I-6-4- Choix des marqueurs moléculaires	48
I-6-4-1- Marqueurs microsatellites	48
I-6-4-1-1- Définition	48
I-6-4-1-2- Principe de la technique de PCR	49
I-6-4-2- Applications des marqueurs microsatellites chez <i>Simulium damnosum</i> s.l	49
I-6-5- Cas des allèles nuls.....	50
I-6-5-1- Effet des allèles nuls.....	50
I-6-5-2- Estimation et correction des allèles nuls.....	50
I-6-6- <i>F</i> -statistiques de Wright	50
I-6-6-1- Définition.....	50
I-6-6-2- Estimation des <i>F</i> -statistiques de Wright	51
I-6-7- Déséquilibre de liaison (LD).....	51
I-6-7-1- Définition	51
I-6-7-2- Mesures de déséquilibre de liaison	52
I-7- STRUCTURE GENETIQUE	52

I-7-1- Définition	52
I-7-2- Approches expérimentales de la structure génétique des populations	52
I-7-2-1- Méthode directe	52
I-7-2-2- Méthode indirecte	53
I-7-3- Détection de la structure génétique.....	53
I-7-3-1- Arbre phylogénétique	53
I-7-3-2- Analyse en composantes principales	54
I-7-3-3- Méthodes avec modèle explicite	54
I-7-4- Structure génétique et environnement.....	54
I-7-4-1- Test de Mantel.....	54
I-7-4-2- GESTE (<i>Genetic Structure inference based on genetic and Environmental data</i>)...	55
II- MATERIEL ET METHODES	56
II-1- Zone d'étude	57
II-2- Critères de choix des zones d'étude	57
II-2-1- Département de Soubré	59
II-2-2- Département de Bouaflé.....	61
II-2-3- Département de Touba	63
II-3- Matériel Biologique	66
II-4-Méthodes	65
II-4-1- Choix des points de captures.....	65
II-4-2- Choix des captureurs et condition de travail.....	65
II-4-3- Méthodes d'échantillonnage	65
II-4-3-1- Capture des simulies	65
II-4-3-2- Rythme des captures	66
II-4-3-3- Conservation et transport des simulies capturées	66
II-4-3-4- Identification morphologique des femelles de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	67
II-4-3-5- Critères de classification des simulies de savanes et de forêts.....	68
II-4-3-6- Technique de dissection de femelles de <i>Simulium damnosum</i> capture	68
II-4-3-7- Détermination de l'âge physiologique des femelles de <i>Simulium damnosum</i> s.l disséquées.....	69
II-4-3-8- Détermination de l'infection des simulies par <i>Onchocerca volvulus</i>	70
II-4-4- Enregistrement des résultats de la capture et de la dissection	70

II-5- Détermination de la diversité génétique des populations de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	70
II-5-1- Extraction de l'ADN génomique des simuliés	70
II-5-2- Sélection et génotypage des marqueurs microsatellites par la technique PCR	70
II-5-2-1- Sélection des marqueurs microsatellites	70
II-5-2-2- Génotypage des marqueurs microsatellites par la technique PCR	71
II-5-2-2-1- Composition du milieu réactionnel.....	71
II-5-2-2-2- Programme d'amplification de l'ADN.....	72
II-5-2-2-3- Préparation du gel d'agarose.....	72
II-5-2-2-4- Migration des produits d'amplification	72
II-5-2-2-5- Electrophorèse sur gel d'agarose	73
II-6- Analyses statistiques des données	73
II-6-1- Paramètre estimé de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	73
II-6-2- Diversité génétique des populations	75
II-6-2-1- Variabilité intrapopulation	75
II-6-2-2- Différenciation et structure génétique entre les populations	76
II-6-3- Détection de l'isolation par la distance	78
II-6-4- Nombre de migrants	78
III- RESULTATS	79
III-1- Faune simuliédienne	80
III-1-1- Taux de piqûres journalières.....	80
III-1-1-1- Site de Soubré	80
III-1-1-2- Site de Bouaflé	81
III-1-1-3- Site de Touba	82
III-1-2- Période journalière et nuisance simuliédienne	83
III-1-2-1- Site de Soubré	83
III-1-2-2- Site de Bouaflé.....	84
III-1-2-3- Site de Touba	85
III-1-3- Age physiologique	87
III-1-4- Taux d'infection naturelle	88
III-1-5- Comparaison de la parturité simuliédienne.....	88
III-1-6- Variation saisonnière et nuisance simuliédienne	88

III-1-7- Comparaison entre la variation saisonnière et la nuisance simulidienne dans les localités.....	89
III-2- Diversité génétique intrapopulation de <i>Simulium damnosum</i> s.l	90
III-2-1- Fréquences alléliques dans la population totale	90
III-2-1-1- Fréquences alléliques à Soubré	90
III-2-1-2- Fréquences alléliques à Bouaflé	91
III-2-1-3- Fréquences alléliques à Touba	91
III-2-2- Polymorphisme et richesse allélique	96
III-2-2-1- Soubré	96
III-2-2-2- Bouaflé	96
III-2-2-3- Touba	96
III-2-2-4- Répartition de la richesse allélique entre les localités	96
III-2-3- Déséquilibres de liaison au sein des trois zones	97
III-2-4- Variabilité intra-populations	99
III-2-5- Effets des problèmes d’amplifications	101
III-2-5-1- Test de la fiabilité des marqueurs microsatellites	101
III-2-5-2- Recherche d’allèles nuls	101
III-3-4- Différenciation génétique inter-populations	105
III-4- Marqueurs sous sélection	105
III-5- Structuration génétique de la population de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	106
III-5-1- Analyse Factorielle des correspondances.....	106
III-5-2- Groupes génétiques.....	107
III-5-3- Analyse de la structuration génétique par la méthode d’Evanno.....	108
III-5-4- Structure de la population de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	111
III-6- Isolement par distance	111
III-7- Estimation du nombre de migrants	113
IV-DISCUSSION.....	114
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	125
Conclusion	126
Perspectives	128
Recommandations	129
REFERENCES BILIOGRAPHIQUES.....	130

Table des matières

ANNEXES	154
PUBLICATIONS	158

DEDICACE

A mes très chers et regrettés parents, SIMARO Mamadou, BERTE Fanta et BERTE Mory dont l'absence qui m'a meutri, se révèle éternelle aujourd'hui et se mue en ma source de motivation et d'abnégation. Paix à vos âmes !

A mon admirable fils, SIMARO Mory Khader pour que ce travail t'inspire à progresser dans la vie !

A mes frères et sœurs, merci pour vos encouragements, vos soutiens multiples et multiformes.

AVANT-PROPOS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM) de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (UJLoG).

Il m'est agréable de pouvoir remercier le Directeur de cette Unité de Recherche, Docteur KOFFI N'Goran Mathurin. Cette thèse a été réalisée au sein de votre Unité de Recherche (URGEM) où j'ai trouvé des conditions de travail idéales. Vous avez été le concepteur et l'instigateur de cette étude. Pour la confiance que vous m'avez toujours accordée, je vous exprime ma profonde reconnaissance.

REMERCIEMENTS

Qu'il est parfois « simple » d'écrire une partie d'un article et parfois si difficile de trouver les bons mots pour exprimer la gratitude qui nous habite envers quelques personnes.

Ce manuscrit n'aurait jamais pu exister sans plusieurs personnes qui ont réussi à me pousser dans mes retranchements et à aller chercher le meilleur de moi-même en toutes circonstances.

J'exprime mes sincères et infinis remerciements à mon Directeur scientifique, Docteur KOFFI N'Goran Mathurin. Merci de m'avoir ouvert les portes de l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire (URGEM), et m'avoir fait découvrir le monde des *Simulium damnosum*, j'ai vraiment aimé faire cette thèse! Merci pour nos excursions échantillonnages fort sympathiques. Merci de m'avoir fait grandir dans le milieu qu'est la recherche! Il me reste encore beaucoup à apprendre, mais les bases ne sont (j'espère) pas trop mauvaises maintenant, grâce à vous. Vous avez été un super « Chef ». Merci pour tout le soutien financier indéfectible qui a été déterminant pour l'aboutissement de ce travail, d'avoir pris le temps de m'écouter, de m'expliquer et surtout de m'avoir soutenu jusqu'au bout de cette thèse.

Merci également au Docteur JAMONNAU Vincent, chargé de recherche à l'institut de recherche et de développement (IRD), pour l'intérêt porté à ce sujet. Vos larges connaissances, vos conseils et suggestions m'ont aidé dans les « méandres » de l'entomologie de l'onchocercose, et de mieux centrer le travail dans le contexte actuel de la lutte.

Un sincère remerciement au Professeur TIDOU Abiba Sanogo, Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG). C'est un grand honneur pour moi que vous acceptiez de présider mon jury de thèse et d'apporter votre appréciation à la modeste contribution qu'est cette thèse. Très cher grand maître, veuillez agréer l'expression de ma profonde gratitude ;

Professeur AKAFFOU Doffou Sélastique, Vice-président chargé de la planification et des relations extérieures de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), malgré ses multiples occupations, il nous a fait partager sa riche expérience scientifique et ses connaissances approfondies en génétique des populations. Du fond du coeur, je lui exprime ma profonde reconnaissance ;

Professeur KONE Tidiani, Vice-président chargé de la pédagogie, de la vie universitaire, de la recherche et de l'innovation technologique de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) pour ses observations pertinentes et ses conseils fort utiles ;

Remerciements

Madame la Directrice de l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), Docteur TRAORE Karidja, Maître de Conférences pour avoir autorisé mon inscription au sein de son UFR, me donnant ainsi l'opportunité de faire des études doctorales.

Je remercie le Docteur GONEDELE Bi Séry Ernest, Maître de Conférences en Génétique de l'UFR Biosciences (UFHB), rapporteur de cette thèse. Vos remarques pertinentes sur le fond et la forme de ce manuscrit ont permis de mettre en valeur ce travail ;

Docteur SORO Senan, Maître de Conférences en Entomologie à l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé pour avoir accepté d'instruire la thèse.

Docteur YAPI Yapi Grégoire, Maître de recherches au Centre d'Entomologie Médicale et Vétérinaire (CEMV), pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse. Je vous remercie pour la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de participer au jury.

J'exprime ma profonde gratitude au Docteur AYOLIE Koutoua, Maître de Conférences et Directeur du Laboratoire Agriculture et foresterie tropicale (Agritrop) de l'UFR Agroforesterie, qui a bien voulu accepter de participer au jury de cette thèse.

Avant d'exposer les résultats de mon travail, qu'il me soit encore permis d'exprimer ma gratitude à toutes les personnes (scientifiques ou non) qui ont contribué à divers titres à sa réalisation.

Au Docteur KONATE Ibrahim, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) pour ses conseils et sa disponibilité depuis le début de cette entreprise. Merci pour vos encouragements.

Au Docteur Touré Mahama, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG), votre encadrement m'a été d'une aide précieuse, autant que vos critiques et suggestions permanentes pour la réalisation pratique de ce travail. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon attachement.

Au Docteur Kpangui Isidor, Assistant à l'Université Félix Houphouët-Boigny (UFHB), pour vos encouragements, merci aussi pour avoir donné votre temps à la lecture du manuscrit.

A tous les enseignants de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) qui nous ont fait partager leurs savoirs.

Remerciements

A Monsieur COULIBALY Dognisongué pour m'avoir formé à l'identification et à la dissection des similies.

Je remercie l'Unité URGEM du Laboratoire Agrovalorisation de l'Université Jean Lorougnon Guédé (UJLoG) pour le cadre propice et le matériel mis à ma disposition pour mes manipulations.

Nos remerciements vont à l'endroit de mes aînés de l'URGEM, en particulier Docteur AHOUTY Bernadin et M. KONAN Thomas pour leur grande disponibilité et leur soutien.

Merci à toute la Team URGEM

N'DJECTHI Kassi Martial, ABE Alépo Innoncent, SOKOURI Edwige, TRAORE Barkissa, GBAGLA Flora, OUATTARA Adama, GUEI Raïssa et AMANI Kouadio, pour vos implications et vos participations à mes travaux de laboratoire. Cela a vraiment été instructif et agréable de travailler avec vous !

Que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à cette étude : M. DIAMBRA Yapo pour les excursions échantillonnages, KESSE Brice, OUDRAOGO Paul, SAWADOGO Abou et BAMBA Bangaly qui ont effectué les captures des similies lors des différentes missions d'échantillonnages, trouvent ici nos sincères remerciements.

Merci à mes parents pour l'amour qu'ils me manifestent notamment par leur soutien constant et leurs encouragements à distance. Ils m'ont toujours laissé le choix et donné les moyens de réaliser mes rêves. Merci pour ce savant mélange de liberté et de présence.

Enfin, Je remercie OULAI Prisca pour son soutien moral, BA Alida Judith pour son grand cœur, TIEHI Léonie, DANHO TCHAKE Josiane, KOUADIO Aya Clémence, KIEGBO Narcisse, ABO Kouakou, BOHUI Cyril, OULAI Donald, N'GUETTIA Hassan, MAMBO Cyril, DOSSO Amara, YANKOU Dougba Francky, GBETIBOUO Abraham, BOUMA Widy David Serge et DOUDOU Ida Eliane.

Vous avez su, trouver les bons mots pour m'encourager et surtout pour ne pas abandonner...

Merci à tous ...

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

AFC	Analyse Factorielle des Correspondances
AIP	Agence ivoirienne de presse
ADN	Acide Désoxyribonucléique
APOC	Programme Africain de lutte Contre l'Onchocercose
ARN	Acide Ribonucléique
BCE	Biopsie Cutanée Exsangue
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CMFC	Charge MicroFilarienne Communautaire
DDT	Dichloro-Diphényl-Trichloréthane
DEC	Diéthylcarbamazine
dNTP	désoxyribonucléotides tri-phosphates
DOLF	Death Onchocerciasis and filariose Ltmphatic Filariasis
EDTA	Acide éthylène diamine tétraacétique
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation
F_{IS}	Coefficient de consanguinité
F_{ST}	Indices de fixation de Wrigh
INS	Institut National de la Statistique
MgCl₂	Chlorure de Magnesium
mL	Millilitre
NaCl	Chlorure de Sodium

Liste des sigles et abréviations

OCF	Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'ouest
OCCGE	Organisation de Coopération et de Coordination pour la lutte contre les Grandes Endémies
OEPA	Programme d'élimination de Onchocercose pour l'Amérique
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONG	Organisations non-gouvernementales
ORSTOM	Office de la Recherche Scientifique et de Technique Outre Mer
PAT	Potentiel Annuel de Transmission
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PMT	Potentiel Mensuel de Transmission
PNSO-LO	Programme National de Santé Oculaire et Lutte contre l'Onchocercose
Pb	Paire de bases
PNUD	Programme des Nations Unies pour le Développement
RAPD	Amplification Aléatoire de fragments d'ADN polymorphe
RFLP	Polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction
SLR	Solution de Lyse de globule blanc
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism
TMP	Taux Mensuel de Piquêre
TBE	Tris Borate EDTA
TE	Tris Ethylenediaminetetraacetic
TIDC	Traitement à l'Ivermectine sous Directive Communautaire
URGEM	Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Vecteurs simulidiens de <i>l'Onchocerca volvulus</i> et géorépartition	18
Tableau II : Critères d'identification des simules de savane et de forêt	67
Tableau III : Caractéristiques des loci microsattellites de <i>Simulium damnosum</i> s.l	71
Tableau IV : Programme d'amplification de l'ADN.....	72
Tableau V : Resultats de capture des simules dans les différentes localités.....	80
Tableau VI : Nuisance simulidienne journalière et mensuelle dans les différentes localités.....	81
Tableau VII : Variation périodique de la moyenne de piqûre dans les localités	86
Tableau VIII : Taux de paturité des simules à Soubré, Bouaflé et Touba	87
Tableau IX : Parturité du complexe <i>Simulium damnosum</i> dans les zones d'études.....	88
Tableau X : Variation saisonnière de la nuisance simulidienne	89
Tableau XI : variation saisonnière de la nuisance simulidienne dans les localités	90
Tableau XII : Répartition des allèles au sein des sous-populations	93
Tableau XIII : Résultat des tests des combinaisons alléliques	98
Tableau XIV : Résultats de l'étude de la diversité génétique au sein des populations <i>Simulium damnosum</i> par utilisation de marqueurs microsattellites.....	100
Tableau XV : Comparaison des estimations des fréquences des allèles nuls.....	104
Tableau XVI : Différenciation génétique estimée par l'indice F_{ST} entre les populations de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	105
Tableau XVII : Diversité génétique entre les trois groupes selon la méthode de Weir et Cockrham	111
Tableau XVIII : Distance génétiques et distances géographiques entre populations échantillonnées.....	112

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Exemples de nodules cutanés.....	8
Figure 2 : Différentes manifestations cutanées de l'onchocercose	9
Figure 3 : Kératites ponctuées	10
Figure 4 : Illustration des deux modes de prélèvement des biopsies cutanées	12
Figure 5 : Structure moléculaire de l'ivermectine.....	14
Figure 6 : Structure moléculaire de la suramine	15
Figure 7 : Structure moléculaire de l'albendazole	17
Figure 8 : Structure moléculaire de la moxidectine.....	16
Figure 9 : Cycle vital de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	20
Figure 10 : Œuf de similie	21
Figure 11 : Observation microscopique d'une larve de similie.....	22
Figure 12 : Nymphe de similie	23
Figure 13 : Photographies de similies adultes.....	24
Figure 14 : Anatomie interne de la femelle de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	25
Figure 15 : Variation de l'aire de dispersion des femelles de <i>S. damnosum</i> s.l. en fonction de la zone bioclimatique et de la saison	26
Figure 16 : Capture sur appât humain	28
Figure 17 : Transformation d'une larve d' <i>Onchocerca volvulus</i> : passage du stade L1 au stade L3.....	32
Figure 18 : <i>Onchocerca volvulus</i> adultes.....	33
Figure 19 : Cycle de développement d' <i>Onchocerca volvulus</i>	35
Figure 20 : Répartition de l'onchocercose en Afrique.....	38
Figure 21 : Evaluation épidémiologique de l'Onchocercose en Côte d'Ivoire.....	40
Figure 22 : Aire d'activité des différentes organisations non-gouvernementales (ONG) impliquées dans le Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP, zone orange) et dans le Programme africain de lutte contre l'onchocercose (APOC, zone grise).....	43
Figure 23 : Zone de l'étude, Côte d'Ivoire.....	58
Figure 24 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Soubré, Côte d'Ivoire	60
Figure 25 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Bouaflé, Côte d'Ivoire	62

Figure 26 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Touba, Côte d'Ivoire	64
Figure 27 : Tube de capture	66
Figure 28 : Identification morphologique des femelles de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	67
Figure 29 : Dissection de l'appareil génital femelle	69
Figure 30 : Variation journalière du taux de piqûres de dans la zone de Soubré.....	81
Figure 31 : Variation journalière du taux de piqûres dans la zone de Bouaflé.....	82
Figure 32 : Variation journalière du taux de piqûre dans la zone de Touba	82
Figure 33 : Variation périodique de la moyenne des piqûres des simulies à Soubré.....	84
Figure 34 : Variation périodique de la moyenne des piqûres des simulies à Bouaflé	85
Figure 35 : Variation périodique de la moyenne des piqûres des simulies à Touba	85
Figure 36 : Electrophorégramme sur gel d'agarose à 2 % de souches de <i>Simulium damnosum</i> de Touba amplifié avec les amorces 60.1 et H3-4.....	91
Figure 37 : Distribution des fréquences alléliques dans la population de simulies analysées en fonction des marqueurs microsatellites	92
Figure 38 : Estimation de la richesse allélique des sous-populations pour chaque locus étudié à Touba, Bouaflé et Soubré, Côte d'Ivoire.....	97
Figure 39 : Valeurs moyennes et intervalle de confiance du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci pour les microsatellites de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	101
Figure 40 : Fréquence des homozygotes par locus	103
Figure 41 : Valeurs de F_{ST} attendues en fonction de l'hétérozygotie avec 4 marqueurs microsatellites dans 3 populations différentes de <i>Simulium damnosum</i> s.l.....	106
Figure 42 : Représentation des populations étudiées sur le plan 1-2 de l'analyse factorielle des correspondances.....	107
Figure 43 : Structuration génétique des simulies par la méthode de Neighbor Joining...	108
Figure 44 : Détermination du nombre de populations (K) de <i>Simulium damnosum</i> à partir de données microsatellites par la méthode d'Evano	109
Figure 45 : Histogramme montrant la distribution des probabilités d'appartenance des simulies pour un nombre $K = 3$ de groupe génétique	110
Figure 46 : Représentation de l'isolement par la distance entre populations	112

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Fiche de capture	155
Annexe 2 : Fiche de dissection	156
Annexe 3 : Protocole d'extraction d'ADN de <i>Simulium damnosum</i>	157

INTRODUCTION

L'Onchocercose est une maladie parasitaire causée par une filaire de l'espèce *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893). Cette filaire est transmise par des diptères appartenant au genre *Simulium*. Ces insectes se reproduisent dans les rivières à courant rapide augmentant le risque de cécité chez les personnes vivant à proximité, d'où le nom usuel de "cécité des rivières". Les formes adultes du parasite, dont la durée de vie moyenne est de 10 à 15 ans, peuvent être observées sous forme libre dans les vaisseaux lymphatiques du derme, mais peuvent aussi envahir tous les tissus oculaires (Prost, 1980 ; Plaisier *et al.*, 1991). Elles sont généralement localisées dans des nodules sous-cutanés et produisent entre 500.000 et un million de microfilaries par année. Ces dernières constituent le stade pathogène du parasite. L'accumulation des microfilaries dans l'organisme provoque l'apparition de complications. Elle s'accompagne de prurits ou de démangeaisons souvent sévères, des lésions cutanées aiguës ou chroniques, et des atteintes des nerfs optiques pouvant conduire à la cécité. L'onchocercose est également mise en cause comme facteur de risque dans la survenue de certains cas d'épilepsie et de nanisme (Ovuga *et al.*, 1992).

Les statistiques de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) révèlent, qu'environ 120 millions de personnes ont été exposées au risque de contracter l'onchocercose. Parmi ces personnes, 37 millions étaient déjà infectés dont 300 000 sont aveugles, 500 000 cas de baisse d'acuité visuelle et 8,9 millions de cas d'atteintes cutanées (OMS, 2011). Les foyers les plus importants et les plus graves sont en Afrique de l'Ouest (Prost, 1980). L'onchocercose est un problème de santé publique prioritaire dans de nombreux pays africains avec des répercussions socio-économiques graves. En effet, le poids de l'onchocercose et surtout de ses manifestations oculaires entraîne un état de détresse chez les populations qui en sont victimes (Yapi *et al.*, 2014). C'est une maladie invalidante poussant les jeunes à abandonner les terroirs riverains où le tissu social des villages se désagrège (OMS, 2013a). Elle est un obstacle très sérieux à l'établissement de communautés (Opoku & Bakajika, 2018). Cette maladie réduit l'immunité de l'homme en tant qu'hôte et sa résistance aux autres maladies (Opoku & Bakajika, 2018).

Au regard des graves répercussions sanitaires et socio-économiques de la maladie, les efforts concertés de la communauté internationale scientifique pour combattre ensemble l'onchocercose aboutirent au lancement de deux programmes (Hougard *et al.*, 2001). Il s'agit, du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP) débuté en 1974 et terminé en Décembre 2002. Fondé sur l'élimination des simules par une lutte antilarvaire sans

que les populations concernées ne soient traitées, l'OCP a couvert en partie, les zones de savanes et les secteurs préforestiers des pays endémiques de l'Afrique de l'Ouest comme la Côte d'Ivoire. Le programme Africain de lutte Contre l'Onchocercose (APOC) assure le traitement systématique des porteurs de microfilaries en distribuant un médicament, à base de l'ivermectine, depuis les années 2000. Ce médicament, permet de maintenir les charges microfilariennes à un niveau très faible, n'entraînant pas la survenue des complications de l'infestation. En somme, les activités des deux programmes ont ainsi permis d'interrompre la transmission du parasite pendant une période suffisamment longue pour conduire à l'attrition naturelle du réservoir de parasites chez les populations, et donc à l'annulation de l'incidence de la maladie (Pion, 2004). Cependant, en Côte d'Ivoire, l'arrêt des activités de l'OCP et le début de l'APOC ont coïncidé avec la crise militaro-politique de 2002. Ce conflit armé a entraîné pendant plus de 10 ans, une interruption des mesures de surveillance entomologiques (Boatin *et al.*, 2003). Depuis la fin du programme OCP en 2002, la Côte d'Ivoire n'a pu conduire régulièrement des activités de lutte et de surveillance (IRIN, 2007). Le taux de couverture thérapeutique obtenu lors des distributions de l'ivermectine par le Programme National de Santé Oculaire et de la Lutte contre l'Onchocercose (PNSO-LO) n'a pas ainsi été atteint. Ce taux de couverture devrait dépasser, chaque année et pendant 12 ans, 65 % de la population totale (Pion, 2004).

L'objectif des programmes n'ayant pas visé l'éradication du parasite et de son vecteur, des facteurs de risque de recrudescence de la maladie existent (Adjami *et al.*, 2006). Ainsi, en Côte d'Ivoire, après l'arrêt de l'OCP, une ré-invasion de simulies le long des cours d'eau dans la zone cotonnière sur la Léraba (Ouangolodougou) dans la région Nord, sur le Bou et le Foubou (Dikodougou) ont été observé (OMS, 2011). Par ailleurs, une évaluation entomologique réalisée en 2014, indique que la situation entomologique dans l'aire initiale autrefois assaini se dégrade (Yapi *et al.*, 2014). En outre, le retour ou l'augmentation des populations de vecteurs dans le département de Bouaflé, rend possible la dissémination du parasite par les mouvements de simulies (Yapi *et al.*, 2014). La recolonisation des cours d'eau par les simulies connue sous le nom de ré-invasion constitue un véritable problème de santé pour les populations riveraines, du fait d'une possibilité de réémergence de l'onchocercose, et aussi d'une nuisance simulidienne (Opoku & Bakajika, 2018). Il apparaît opportun de caractériser les facteurs responsables du phénomène de ré-invasion des populations de *S. damnosum* s.l., notamment la dynamique des populations.

Depuis 1985, de nombreuses études épidémiologiques ont permis de décrire de manière détaillée les phénomènes de ré-invasion (Baker *et al.*, 1986 ; 1990). Plusieurs études entomologiques menées en Côte d'Ivoire, se sont intéressées seulement à la transmission d'*Onchocerca volvulus* par *Simulium damnosum* s.l. (Traoré & Hebrard, 1981 ; Traoré & Hébard., 1983 ; Traoré *et al.*, 2006 ; Yapi *et al.*, 2014 ; Simaro *et al.*, 2019). Cependant, aucune étude de la diversité génétique et de la structuration génétique des simulies du complexe *S. damnosum* s.l n'a été menée. Cette absence d'étude pourrait rendre difficile la connaissance des caractéristiques biologiques des populations de *S. damnosum* s.l. Ceci pourrait également rendre complexe la détermination de l'échelle de différenciation des populations de *S. damnosum* s.l., ainsi que l'estimation des flux de gènes entre populations plus ou moins distantes. Partant de ce fait, la caractérisation moléculaire des populations de *S. damnosum* s.l. impliquées dans la transmission d'*O. volvulus* apparaît donc comme un point important. C'est dans ce contexte que s'inscrivent les présents travaux de recherche portant sur la génétique des populations de *S. damnosum* en Côte d'Ivoire. L'objectif général est d'étudier la structuration génétique des populations de *Simulium damnosum* s.l à l'aide de marqueurs microsatellites. De façon spécifique, il s'agit de :

- ✚ étudier la dynamique des populations des simulies et leur capacité vectrice dans trois facies épidémiologiques ;
- ✚ étudier la diversité génétique des souches de simulies retrouvées en zone de forêt et de savane ivoirienne à l'aide de marqueurs microsatellites ;
- ✚ examiner la structuration génétique des populations de *S. damnosum* s.l dans des espaces géographiques forêt et savane.

Le document est structuré en quatre (4) parties. La première partie aborde les généralités sur l'onchocercose. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisés au cours de l'investigation. La présentation des résultats de recherches constitue la troisième partie, et ces résultats sont discutés à la quatrième partie. Enfin, une conclusion et des perspectives pour les recherches futures dans le but d'approfondir ce travail mettent fin au travail.

I - GENERALITES

I-1- ONCHOCERCOSE

I-1-1- Historique

Les premières études cliniques sur l'onchocercose ont été effectuées en 1571 par le Conseil de la Nouvelle Espagne sur les noirs venus d'Afrique et de la Jamaïque (Aziz *et al.*, 1982). Cette maladie a été associée en 1875 à des microfilaires d'onchocercques par O'Neil, médecin de la marine irlandaise (O'Neil, 1875). Il les avait découvertes dans la peau de malades autochtones de la Gold Coast, le Ghana actuel. Ces malades souffraient de "craw-craw" ou maladie qui démange. En 1893, à Leipzig en Allemagne, Friedrich Rudolph Leuckart, examine des nodules prélevés à la tête et au thorax chez des patients ghanéen. Ce dernier identifie formellement des larves (*Filaria, Diurna* et *nocturna*) et des filaires adultes ou microfilaires qui ont été dénommées *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1983).

En 1901, Prout fait la description d'un ver adulte mâle, d'un ver adulte femelle et d'embryons de *Filaria volvulus* à partir de l'observation d'un nodule extirpé de la ceinture pelvienne d'un douanier Sierra-Leonais. Par ailleurs, c'est en 1902 que Brumpt récolte le long des grandes rivières dans la province de l'Uele en République Démocratique du Congo (RDC), les premiers exemplaires de simulies décrites par Theobald en 1903, d'où l'appellation de *Simulium damnosum* Theobald (1903). Dans sa description en 1913, Onzilleau présente une première lésion cutanée due à l'onchocercose africaine. En 1915, Robles établit une relation entre la parasitose due à *Onchocerca caecutiens* et les lésions oculaires.

En 1920, Montpellier et Lacroix découvrent des microfilaires dans le derme de soldats africains et décrivent le syndrome papulo-vésiculeux à rechute ou prurigo filarien, similaire au « crawl-crawl » décrit par O'Neill. En revanche, les recherches sur la transmission d'*O. volvulus* par *Simulium damnosum* réalisées par le parasitologue écossais Breadablane Blacklock entre 1923 et 1926 à Tumbudu (actuellement Tumbodu), dans le district de Konno (actuelle Konno) à l'Est de la Sierra-Leone, ont permis d'établir de manière définitive le rôle vectoriel des simulies (Blacklock, 1926 ; 1927).

De 1955 à 1974, les initiatives de Richet, Ovazza et Le Berre, en Afrique Centrale et de l'Ouest, permettent de mener des campagnes de lutte anti vectorielle sous l'égide de l'OCCGE et de l'ORSTOM (Philippon & Sékétéli, 1998). Ce n'est qu'en 1974, sous l'égide de l'OMS que le programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (*Onchocerciasis Control Programme*, OCP) a été initié dans le bassin des Volta.

En 1987, l'utilisation de l'ivermectine comme solution alternative à la lutte anti-vectorielle, a favorisé la naissance de nouveaux programmes de lutte. Il s'agit notamment du Programme d'élimination de l'Onchocercose dans les Amériques (OEPA), créé en 1991 et du Programme Africain de Lutte contre l'Onchocercose (APOC) lancé en 1995. Ce n'est qu'en 2002, que le programme OCP a pris fin après 28 ans de lutte ininterrompue contre cette endémie en Afrique de l'Ouest (OMS, 2002).

I-1-2- Maladie

I-1-2-1- Définition

L'onchocercose est une filariose dermique due au développement d'un nématode "*Onchocerca volvulus*" (Leuckart, 1893) dans le tissu sous-cutané de l'homme. Ce parasite est transmis par la piqûre de femelles de Diptères du genre *Simulium*. L'onchocercose est une maladie parasitaire cumulative. En effet, sa gravité est proportionnelle au degré d'infestation et d'exposition des individus à l'agent pathogène et donc à la densité de piqûres des simulies vecteurs. Débilite et invalidante, l'onchocercose est une maladie rurale, dont l'évolution est lente et les causes inapparentes pour l'observateur non averti. L'état général des personnes atteintes (onchocerquiens) et les manifestations cliniques de cette maladie font d'elle, un redoutable fléau tant du point de vue de la santé publique que sur le plan socio-économique (OMS, 2002).

I-1-2-2- Manifestations cliniques de l'onchocercose

L'onchocercose est le plus souvent muette ou asymptomatique. Toutefois, en cas d'infestation intense, elle s'exprime par des manifestations cutanées ou oculaires. Plusieurs phases sont observées au cours de la maladie. Il s'agit de la période de prépatence, l'incubation et la période d'état.

I-1-2-2-1- Période de prépatence et d'incubation

La période de prépatence est le temps qui s'écoule entre l'introduction des larves infectantes et le moment où les microfilaires produites par les femelles fécondées peuvent être mises en évidence dans la peau. Cette période varie en moyenne entre 12 et 15 mois (Prost, 1980). Quant à la période d'incubation clinique, elle correspond au temps qui s'écoule entre l'inoculation des larves infestantes et les premiers signes cliniques (démangeaisons). Cette période dure plusieurs années (OMS, 2002).

I-1-2-2-2- Période d'état

✚ Nodules

Des nodules fibreux sous cutanés appelés onchocercomes se développent autour des vers adultes sur les plans osseux pour la plupart. Leur localisation peut varier selon les régions d'endémie. En Afrique, les localisations préférentielles sont en position basse. Les nodules peuvent se former dans les crêtes iliaques, les grands trochanters, le grill costal, la région sacro-coccygienne, et les membres inférieurs (Anonyme, 1987). Les onchocerques adultes s'enkystent dans des nodules sous-cutanés de taille variable (1 à 5 cm de diamètre en moyenne), aisément repérables et palpables (Figure 1). Un à cinquante nodules peuvent être dénombrés chez un même individu. Ce nombre de nodules augmente avec la durée d'exposition à la maladie et donc avec l'âge moyen des patients. Éventuellement gênants, les nodules ne sont pas douloureux et ne suppurent pas (OMS, 2002).

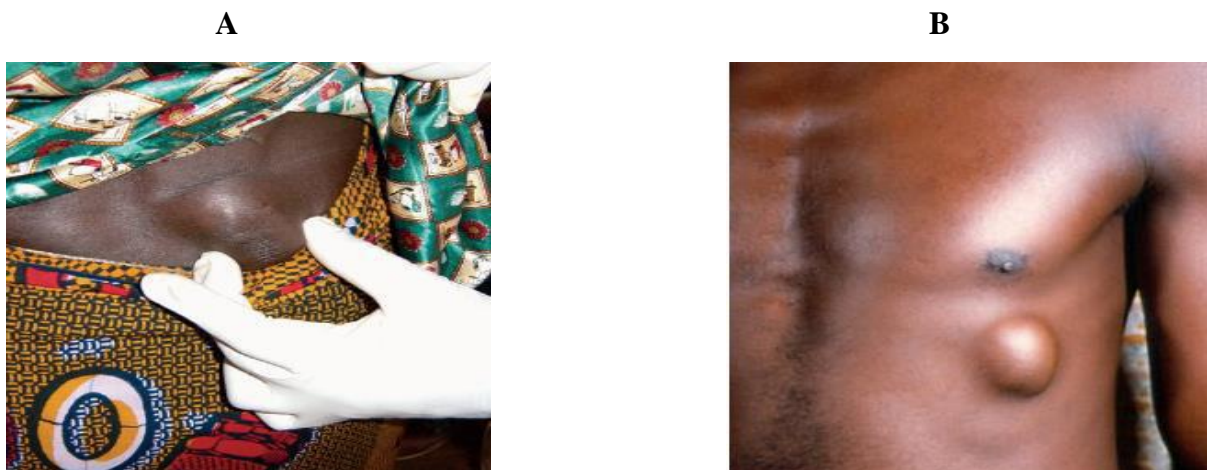


Figure 1 : Exemples de nodules cutanés

A nodule au niveau de la hanche (Taylor *et al.*, 2010)

B nodule au niveau du grill costal (Carme & Esterre, 2012).

✚ Manifestations cutanées

Les manifestations cutanées sont dues à la lyse des microfilaries qui envahissent la peau. Cela provoque une inflammation, puis des dommages à long terme. Ce syndrome se manifeste par un prurit isolé qui s'accompagne ensuite de lésions cutanées donnant un prurigo. Les lésions de grattage qui en résultent laissent place à des cicatrices indélébiles. En effet, l'ensemble des lésions jeunes, plus ou moins surinfectées, et des lésions cicatricielles constitue un tableau de « gale filarienne » ou « craw craw », le plus souvent au niveau des fesses et des cuisses ainsi que dans la région lombaire (Figure 2A). Très prurigineuse, ces manifestations cutanées se

caractérisent par des papules de tailles variables, parfois surmontées d'une vésicule. Une dermatite lichenifiée peut se développer après quelques années d'évolution (Figure 2B) (Gentilini & Dufflo, 2000). A certains endroits, la peau des malades se dessèche et s'épaissit (hyperkératose, squames). Elle prend un aspect pachydermique et est qualifié de « peau de lézard » (Anonyme, 2008). La peau peut former des plis en s'atrophiant, prenant ainsi un aspect « papier de cigarette» (OMS, 2002). Elle peut également être sèche, ridée, et perdre en élasticité, comme si elle vieillissait prématurément. C'est l'atrophie cutanée sénile précoce (Figure 2C) (DOLF, 2010). Dans les zones d'hyperendémie, il est fréquent d'observer, à un stade tardif chez des sujets généralement âgés, une peau dépigmentée qualifié de « léopard » au niveau inférieur des jambes (Figure 2D et 2E) (Taylor *et al.*, 2010).



Figure 2 : Différentes manifestations cutanées de l'onchocercose

- A :** Lésions cutanées à type de « gale filarienne » (OMS, 2002).
- B :** Pachydermie (associée à une gale filarienne) (Gentilini & Dufflo, 2000).
- C :** Atrophie cutanée avec, en bas à gauche (E), un onchocercome (DOLF, 2010).
- D :** Pseudo vitiligo onchocerquien affectant les crêtes tibiales (Taylor *et al.*, 2010).

✚ Manifestations oculaires

Les manifestations oculaires de l'onchocercose sont liées à l'invasion des différentes parties de l'œil par les microfilaires (OMS, 2002). A leur mort, elles provoquent une réaction inflammatoire puis des lésions oculaires sévères au niveau de la cornée et de la rétine ou du nerf optique. Le risque d'atteinte oculaire est plus important lorsque des nodules sont retrouvés sur la partie supérieure du corps ou sur la tête (OMS, 2002). L'atteinte peut concerner la cornée, partie antérieure de l'œil et / ou sa partie postérieure, la rétine. Les premiers symptômes sont des démangeaisons, un larmoiement et une rougeur de l'œil (Prost, 1980). Ils s'accompagnent d'une photophobie, d'un rétrécissement progressif du champ visuel, ce qui provoque une gêne de la vision nocturne (héméralopie) puis d'une gêne de la vision du jour. La conséquence ultime de l'onchocercose est une cécité complète irréversible qui survient 10 à 15 ans après l'infection (Figure 3) (OMS, 2002).



Figure 3 : Kératites ponctuées (Surugue *et al.*, 2005)

✚ Autres manifestations

En dehors des signes locaux suscités, une onchocercose systémique est observée, avec dissémination du parasite dans l'organisme (Boussinesq, 1997). Aussi, est-il possible d'observer, chez des sujets lourdement infectés, une altération de l'état général, un amaigrissement, ainsi que des douleurs à type d'arthralgies. Dans ces manifestations cliniques, les localisations microfilariennes ne se limitent pas seulement au derme et à l'œil. En effet, les embryons filariens sont également observés dans les organes profonds tels que le foie, la rate, les reins, les poumons ainsi que dans le sang, les urines, le liquide céphalo-rachidien, les sécrétions vaginales et les expectorations (Boussinesq, 1997). Plus tard, il a été montré que

l'infection par *Onchocerca volvulus* pouvait être associée d'une part, à une diminution de l'état nutritionnel (Argaw, 1999) et à des retards de croissance staturo-pondérale (Bositis *et al.*, 1994) par rapport à des individus non infectés d'autre part. Outre, un lien entre l'onchocercose et l'épilepsie a depuis longtemps été suspecté. Les différentes études menées spécifiquement pour tenter de répondre à cette question ont abouti à des résultats contradictoires. Il est également possible que l'onchocercose ait des répercussions sur la fertilité et qu'elle provoque ou favorise la survenue d'avortements, de troubles des règles et de la lactation (Guderian *et al.*, 1997a). D'une manière générale, la fréquence, la précocité et la sévérité des différentes lésions observées dans la symptomatologie onchocerquienne varient avec les zones bioclimatiques, les foyers et les niveaux d'endémicité. Le diagnostic de l'onchocercose est réalisé chez les personnes atteintes à partir de plusieurs tests (OMS, 2011).

I-1-3- Diagnostic de l'onchocercose

I-1-3-1- Signes et symptômes

La présence de microfilaires d'*Onchocerca volvulus* dans la cornée ou la chambre antérieure de l'œil, ainsi que la présence de nodules sous-cutanés et la dépigmentation en « peau de léopard » sur les crêtes tibiales sont des signes évocateurs de l'onchocercose. Toutefois, il est conseillé dans ces cas, de confirmer le diagnostic clinique mené par un examen de laboratoire, notamment par une biopsie cutanée (OMS, 2002).

I-1-3-2-Diagnostic parasitologique

Le diagnostic de certitude de l'onchocercose est apporté par la mise en évidence du parasite dans la peau. En effet, la couche superficielle du derme constitue le lieu d'accumulation des microfilaires d'*O. volvulus* (Keating *et al.*, 2014). Le test diagnostic de référence de l'onchocercose est la biopsie cutanée exsangue (BCE). Ce test consiste à prélever un fragment de peau ellipsoïde, de taille et de poids constants, sans anesthésie locale à l'aide d'une pince de sclérotomie ou Snip-test (Figure 4). Le prélèvement est placé dans un puit d'une plaque à microtitration contenant quelques gouttes de sérum physiologique. Après avoir laissé incuber les prélèvements pendant 24 heures à température ambiante, le liquide est pipeté et les microfilaires qui ont émergé du fragment de peau sont comptées au microscope (Prost & Prod'hon, 1978). La BCE a l'avantage de permettre une quantification de l'infection et de calculer les indicateurs épidémiologiques que sont la prévalence du parasitisme (nombre de sujets hébergeant des microfilaires dans la population) et la charge microfilarienne communautaire (CMFC) (Remme *et al.*, 1986). Cependant les méthodes parasitologiques ne mettent pas toujours en évidence une infestation précoce ou légère (Mullen & Prost, 1983).



Figure 4 : Illustration des deux modes de prélèvement des biopsies cutanées (CDC, 2013)

A : prélèvement d'un lambeau de peau au scalpel (CDC, 2013).

B : prélèvement standardisé réalisé à l'aide d'une pince à sclérotomie (CDC, 2013).

I-1-3-3- Autres tests de diagnostics

I-1-3-3-1- Test de Mazzotti

Le principe du Test de Mazzotti repose sur la réaction allergique décrite dès 1948 par Mazzotti chez des patients onchocerciens venant d'être traités par un filaricide à savoir le diéthylcarbamazine (DEC). Ce test consiste à surveiller l'apparition d'une réaction cutanée (une éruption prurigineuse) chez les sujets onchocerciens, généralement 15 à 30 minutes après l'absorption, par voie orale, d'une dose de 50 mg de DEC. L'intensité de la réaction étant proportionnelle à la densité microfilarodermique, ce test peut être considéré comme semi-quantitatif. Malgré une sensibilité et une spécificité acceptable, le résultat du test de Mazzotti reste subjectif, car laissé à l'appréciation de l'examineur. De plus, chez les personnes lourdement infestées par *Onchocerca volvulus*, l'absorption de DEC peut d'une part, entraîner des réactions sévères tel un œdème pulmonaire ou un collapsus mettant en jeu le pronostic vital des patients et, déclencher l'apparition ou accélérer l'évolution de lésions oculaires d'origine onchocercienne d'autre part. De ce fait, le test de Mazzotti ne doit être utilisé que de façon exceptionnelle et sous contrôle médical strict (OMS, 2002).

I-1-3-3-2- Test du pansement à la diéthylcarbamazine (DEC patch test)

Le Test du pansement à la diéthylcarbamazine est basé sur la réaction de Mazzotti, mais provoque des réactions beaucoup plus modérées. Ce test repose sur l'application cutanée d'une pommade contenant de la diéthylcarbamazine (DEC) (Stingl *et al.*, 1984). Les sujets infectés présentent, 48 heures après l'application, une réaction papuleuse caractéristique. Bien que les résultats de ce test soient de type semi-quantitatif, il donne d'excellents résultats, notamment chez les enfants. Sa sensibilité semble supérieure à celle de la biopsie cutanée exsangue (BCE) même s'il paraît relativement peu sensible dans la détection de l'infection chez des individus faiblement parasités (Toé *et al.*, 2000 ; Boatin *et al.*, 2003). Par ailleurs, le délai de 48 heures entre l'application du pansement et la lecture du résultat rend ce test parfois difficile à réaliser en routine.

I-1-3-3-3- Test de diagnostic rapide de l'onchocercose

Le test rapide de l'onchocercose permet la détection avant une exposition à *Onchocerca volvulus*, parasite responsable de l'onchocercose. Le test repose sur la détection des anticorps dirigés contre un antigène parasite appelé Ov16. Le test a été mis au point pour soutenir les programmes de lutte et d'élimination de l'onchocercose par une amélioration de la surveillance (OMS, 2013). Moins invasif et moins douloureux que les méthodes de diagnostic actuelles, le test rapide de l'onchocercose est rapide, simple à utiliser et approprié pour une utilisation sur le terrain. Les résultats sont valides dès 30 minutes et jusqu'à 24 heures (OMS, 2013).

I-1-4- Traitements de l'onchocercose

I-1-4-1- Nodulectomie systématique

L'un des moyens de diminution de la charge parasitaire individuelle est l'ablation chirurgicale des nodules. Ces nodulectomies peuvent être réalisées sous anesthésie locale mais les conditions d'asepsie doivent dans tous les cas être garanties. Cependant, seulement un tiers des nodules sont palpables et les deux tiers restants sont localisés plus profondément dans l'organisme, ce qui les rend difficilement accessibles (Duke, 1993). Il est donc impossible d'enlever la totalité des nodules présents chez un patient. Par ailleurs l'ablation des nodules proches des trajets vasculaires ou nerveux, notamment aux niveaux des coudes et des poignets n'est pas recommandée. En revanche, les nodules présents au niveau de la tête devraient être opérés prioritairement car il sont associés à un risque accru de lésions oculaires onchocercariennes (Anderson *et al.*, 1975 ; Fuglsang *et al.*, 1976 ; Fuglsang & Anderson, 1978). Les différentes études visant à évaluer l'effet des nodulectomies sur les charges

microfilarodermiques ont donné des résultats modérés et encourageants en Amérique latine mais beaucoup moins probants sur des zones forestières hyperendémiques africaines (Diaz, 1957 ; Kalé, 1982 ; Albiez, 1985 ; Guderian *et al.*, 1987 ; 1988). La nodulectomie n'a donc pas été envisagée dans les campagnes de masse contre l'onchocercose.

I-1-4-2- chimiothérapie de l'onchocercose

I-1-4-2-1- Diéthylcarbamazine citrate (DEC)

La diéthylcarbamazine citrate (Notézine[®], Banocide[®], Hetrzan[®]) (DEC), découverte en 1947, a longtemps constitué le traitement standard de l'onchocercose et reste aujourd'hui, en association avec l'albendazole, le médicament de choix dans le traitement de la filariose lymphatique dans les régions où celle-ci est la seule filariose endémique. Néanmoins, ce traitement microfilaricide doit être administré pendant plusieurs jours, voire plusieurs semaines, pour être efficace. La DEC n'a pas d'effet prophylactique contre *Onchocerca volvulus* (Duke, 1968a).

I-1-4-2-2- Ivermectine

L'ivermectine est un microfilaricide très efficace qui tue 99 % des microfilaires en un seul traitement (Figure 5). En effet, depuis son enregistrement, sous le nom commercial de Mectizan[®] en 1987, l'ivermectine est le traitement de choix de l'onchocercose. Chez l'homme, l'ivermectine est administrée en prise orale unique à la dose de 150 g/Kg. Ce médicament entraîne une diminution drastique de la charge microfilarienne. Cette diminution est le résultat de deux mécanismes principaux. La première est que l'ivermectine paralyse les microfilaires présentes dans le système lymphatique. Celles-ci sont alors drainées passivement vers les ganglions lymphatiques, où elles sont détruites. Cet effet est rapide et les densités microfilariennes peuvent ainsi être diminuées de 95 % en quelques jours. La deuxième raison est que l'ivermectine interrompt pendant quelques mois la production de microfilaires par la femelle adulte. Après ce délai, les charges microfilarodermiques augmentent mais une nouvelle dose d'ivermectine administrée un an après la première, est suffisante pour maintenir l'infection à un niveau suffisamment faible, sans signes cliniques associés. Néanmoins, des traitements par ivermectine administrés tous les trois mois, ont un effet prolongé sur les charges microfilarodermiques (Gardon *et al.*, 2002). Ces traitements favorisent une surmortalité significative des vers adultes par rapport à ce qui est observé avec le traitement habituel à 150 g/Kg chaque année (Brieger *et al.*, 1998).

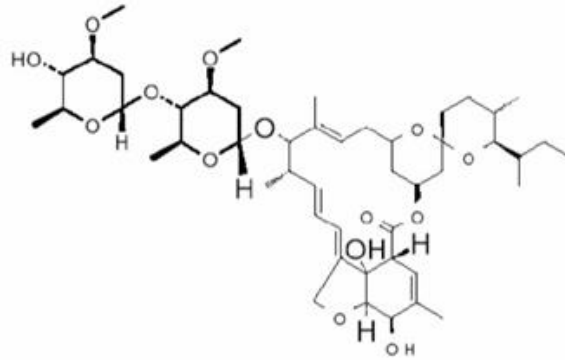


Figure 5 : Structure moléculaire de l'ivermectine

I-1-4-2-3- Suramine

Contrairement aux autres filaricides présentés, la suramine possède un effet macrofilaricide, c'est-à-dire un effet létal et relativement rapide sur les vers adultes d'*Onchocerca volvulus*. Malheureusement, l'utilisation de la suramine est particulièrement déconseillée en raison de sa haute toxicité pouvant entraîner la mort du patient et son mode d'administration très complexe. En effet la solution fraîchement préparée doit être injectée par voie intraveineuse et administrée pendant quatre à six semaines. Actuellement, la suramine n'est prescrite qu'à des individus ayant quitté une zone endémique et aux patients qui présentent de graves atteintes oculaires ou cutanées évolutives, et pour lesquels l'ivermectine s'avère sans effet (Awadzi *et al.*, 1995).

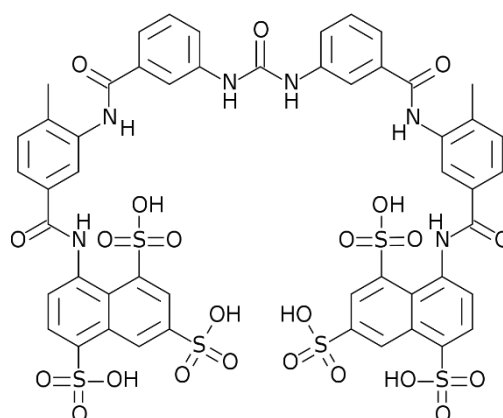


Figure 6 : Structure moléculaire de la suramine.

I-1-4-2-4- Albendazole

L'albendazole n'a pas d'activité macrofilaricide sur *O. volvulus* mais un effet toxique primaire sur les stades embryonnaires d'*O. volvulus* (Awadzi *et al.*, 1991). Ainsi, chez les patients traités par l'albendazole, la production de microfilaries est bloquée et celles déjà présentes, dont la longévité est d'environ six mois, vont mourir naturellement (Awadzi *et al.*, 1991). Leur population va décroître progressivement pendant quelques mois. Le traitement à l'albendazole doit être administré pendant trois jours, ce qui rend son utilisation peu pratique en campagne de masse.

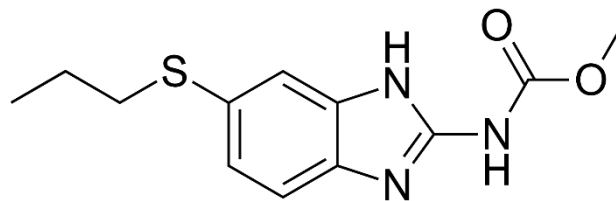


Figure 7 : Structure moléculaire de l'albendazole

I-1-4-2-5- Antibiotiques

Comme de nombreuses filaires, *O. volvulus* renferme des bactéries endosymbiontes, telle que *Wolbachia* (Taylor & Hoerauf, 1999). Ces bactéries, qui semblent être indispensables à l'équilibre vital du parasite, sont sensibles à certains antibiotiques de la classe des cyclines. Ainsi, la tétracycline, administrée de façon répétée pendant plusieurs semaines a montré un effet macrofilaricide sur *Onchocerca ochengi* (Langworthy *et al.*, 2000 ; Trees *et al.*, 2000). De plus, il a été montré que la doxycycline bloque chez les vers adultes d'*O. volvulus*, l'embryogenèse et donc la production de microfilaries de façon durable (Hoerauf *et al.*, 2000 ; 2001a). Parmi les différents antibiotiques testés, les cyclines et la rifampicine administrés pendant plusieurs semaines semblent les plus efficaces contre les *Wolbachia* (Trees *et al.*, 2000). Des études sont en cours pour déterminer des traitements efficaces et de courte durée. Il n'est pas envisageable de traiter des populations par antibiotiques de façon répétée et prolongée. Une telle utilisation risque d'induire une résistance aux antibiotiques utilisés et un déséquilibre de la flore intestinale des personnes traitées (Hoerauf *et al.*, 2000). Par ailleurs, les cyclines sont contre indiquées chez la femme enceinte et chez l'enfant de moins de huit ans.

I-1-4-2-6- Moxidectine

La moxidectine est une molécule analogue de l'ivermectine (Figure 6). Elle est largement employée en médecine vétérinaire pour ses propriétés antihelminthiques. Son efficacité sur *Onchocerca volvulus* est actuellement étudiée. De structure très proche de l'ivermectine, la demi vie de la moxidectine est nettement supérieure à celle de l'ivermectine (Tagboto & Townson, 1996 ; Cotreau *et al.*, 2003). Cela laisse présager une efficacité plus importante sur les parasites. Bien que la moxidectine ait montré des propriétés macrofilaricides sur *Brugia pahangi* chez le chien (Dadzie *et al.*, 2003), les résultats obtenus sur le modèle *O. ochengi* – bétail font craindre que la moxidectine n'aurait qu'un effet macrofilaricide limité sur *O. volvulus* (Trees *et al.*, 2000). Une étude récente a montré que chez l'homme, la moxidectine, administrée à des doses comprises entre trois (3) et 36 mg, sont bien tolérées (Cotreau *et al.*, 2003).

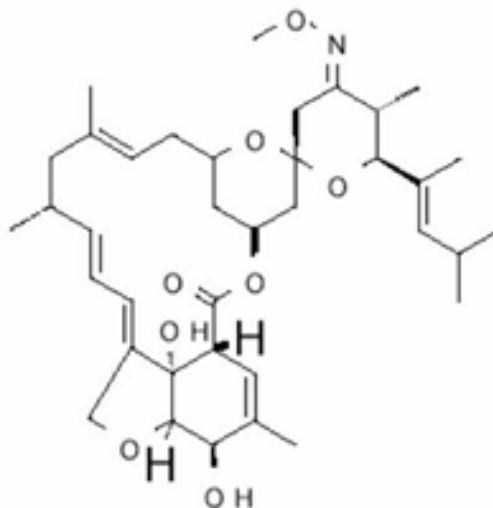


Figure 8 : Structure moléculaire de la moxidectine.

I-2- VECTEUR

Les simuliidés sont des insectes Diptères Nématocères appartenant à la famille des *Simuliidae*. Ils comprennent 12 genres et 1300 espèces. Le genre *Simulium* comprend à lui seul plus de 1000 espèces. Leurs piqûres peuvent être gênantes, nuisibles par sa toxicité et vectrices de parasites (Adler & Crosskey, 2012),

I-2-1- Taxonomie et distribution des vecteurs

I-2-1-1- Systématique de *Simulium damnosum* s.l

En Afrique, *Onchocerca volvulus* est transmis dans la partie tropicale par les espèces appartenant aux complexes *Simulium damnosum*. La transmission du parasite est assurée dans la partie orientale par *S. nawei* et seulement par *S. albivirgulatum* au Congo. La position systématique de *Simulium damnosum* (Crosskey, 1990) est la suivante :

Règne	:	Animal
Embranchement	:	Arthropode
Classe	:	Insecte
Ordre	:	Diptère
Sous-ordre	:	Nematocère
Famille	:	<i>Simuliidae</i>
Sous-famille	:	<i>Simuliinae</i>
Genre	:	<i>Simulium</i>
Espèce	Exemple :	<i>Simulium damnosum</i> (Theobald, 1903)

I-2-1-2- Distribution des espèces de *Simulium damnosum* s.l en Afrique de l'Ouest

Dans l'aire du programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest, la présence et la distribution des espèces du complexe *S. damnosum* s.l sont associées à la diversité des zones bioclimatiques (savanes ou forêt de divers types) et à certains facteurs tels que la topographie ou relief et l'hydrologie (taille, régime, profil longitudinal plus ou moins accidenté, complexité du lit, etc...). Ces facteurs déterminent pour chaque espèce des biotopes plus ou moins spécifiques, auxquels elle peut s'adapter de façon transitoire ou permanente (Tableau I). Ainsi, 13 espèces et formes du complexe *Simulium damnosum* sont impliquées dans la transmission d'*Onchocerca volvulus*, dans l'aire de l'OCP. Il y a un groupe d'espèces savaniques généralement dominantes dans les zones de savane et de pré-Sahel. Un groupe d'espèces est en

région de forêt, généralement abondantes dans les forêts primaires ou secondaires, de forêt dégradée ou de mosaïque forêt / savane, les secteurs pré-forestiers et les savanes de basses latitudes. Les vecteurs majeurs en savane sont *S. sirbanum* et *S. damnosum sensu stricto*. La première domine dans les régions les plus septentrionales des savanes soudaniennes, tandis que la seconde peut se rencontrer dans des biotopes à couverts forestiers où elle s'est parfois adaptée saisonnièrement ou de manière pérenne. En forêt, les vecteurs efficaces sont *S. yahense*, *S. squamosum*, et *S. leonense*. Cette dernière espèce est uniquement rencontrée dans le Sud de la Sierra Leone.

Tableau I : Vecteurs simuliennes de *l'Onchocerca volvulus* et géorépartition (OMS, 2002)

Sous complexes	Espèces et formes	Habitat	Aire principale
<i>S. damnosum</i>	<i>S. damnosum s.s</i>	Savane	Afrique de l'Ouest
	<i>S. dieguerense</i>		
	<i>S. sirbanum</i>	savane sèche	
<i>S. sanctipauli</i>	<i>S. sanctipauli s.s</i>	forêt	Afrique de l'Ouest
	<i>S. leonense</i>		
	<i>S. soubrense</i>	Montagne de Guinée	
	<i>S. konkourense</i>		
<i>S. squamosum</i>	<i>S. squamosum</i>	Forêt et montagne	Afrique de l'Ouest
	<i>S. yahense</i>	Forêt des hautes terres	

I-2-2- Complexe *Simulium damnosum* s.l en Côte d'Ivoire.

Les six espèces importantes du complexe *Simulium damnosum* s.l décrites en Afrique de l'Ouest sont présentes en Côte d'Ivoire (Yapi *et al.*, 2014). L'étude de la répartition géographique de leurs gîtes larvaires ont d'abord permis de constater que *S. damnosum* S.S. (Nile) et *S. sirbanum* (Sirba) peuplent les grands cours d'eau de savane. Ensuite *S. sanctipauli* (Bandama) et

S. soubrense (Soubré) peuplent les grandes rivières de forêt. Enfin *S. yahense* (Yah) et *S. squamosum* (Bille) peuplent respectivement les petites rivières de forêt et de savane (Quillévééré & Pendriez, 1975). Les deux autres espèces ouest-africaines décrites, *S. dieguerense* (Diéguera) et *S. sudanense* (Soudan) sont rares et connues seulement de quelques gîtes. Malgré la grande diversité des espèces simuliennes, leurs caractéristiques biologiques apparaissent relativement homogènes et constantes (OMS, 2002).

I-2-3- Biologie de *Simulium damnosum* s.l.

I-2-3-1- Cycle de vie de *Simulium damnosum* s.l.

Le cycle de vie des simulies compte quatre stades de développement successifs : l'œuf, la larve, la nymphe, qui sont des stades aquatiques et le stade l'adultes (Crosskey, 1990) (Figure 7). Chez *Simulium damnosum* s.l. la femelle pond ses œufs sur un support végétal ou rocheux qui affleure à la surface du courant. Ces œufs au nombre de 400 à 600 restent fixés à ce support en une masse gluante sécrétée par la femelle au moment de la ponte. La durée du cycle de développement des œufs varie en fonction de la température de l'eau. Elle est en moyenne de 36 à 48 heures à 26 °C et de 4 jours à 21 °C (Crosskey, 1990). Elle dépend également de l'existence d'une vitesse de courant satisfaisante (0,5 à 2 m/s) et d'une quantité adéquate de particules alimentaires en suspension.

Les jeunes larves se fixent immédiatement sur un support généralement situé dans les 30 centimètre sous la surface de l'eau. Elles peuvent occasionnellement se laisser dériver vers l'aval grâce à la sécrétion d'une soie fixée à un support et leur permettant de regagner celui-ci à contre-courant. Le développement larvaire comporte sept stades successifs et se déroule entre huit à dix jours. La température de l'eau et le ratio entre la vitesse du courant et la quantité de particules alimentaires en suspension déterminent cette durée. La larve du stade sept se transforme en nymphe après avoir tissé autour d'elle un cocon de soie à l'architecture spécifique. Au cours de cette vie, la similie reste immobile, fixée à un support. A l'issue de cette période qui dure deux à cinq jours, la nymphe donne naissance à un adulte ailé, mâle ou femelle.

Le passage de l'œuf à l'adulte dure 12 à 16 jours. Les femelles sont inséminées peu après leur émergence par des mâles qui vivent en essaims au-dessus de la végétation proche des gîtes. Un seul accouplement se produit pendant toute la vie de la femelle. Celle-ci se met alors à la recherche d'un repas de jus sucré puis d'un repas sanguin sur l'hôte humain ou animal, selon le comportement anthropophile ou zoophile de l'insecte et / ou la densité de ces hôtes dans le voisinage. Un seul repas sanguin est nécessaire et suffisant pour assurer la maturation d'une

ponte. Il s'en suit la phase de maturation des œufs qui dure plusieurs jours. Après cette phase de maturation, la femelle cherche un lieu de ponte. La femelle de *Simulium damnosum* s.l. à une longévité maximale estimée à un mois, et peut effectuer environ six cycles gonotrophiques (ou trophogoniques) au cours de son existence. Elle peut donc transmettre des larves infectantes d'*Onchocerca volvulus* pendant deux à trois repas sanguin. Cependant, en savane, elle peut transmettre plus de larves avec un maximum de cinq repas. Le développement de la filaire chez le vecteur dure en moyenne six à huit jours (Crosskey, 1990).

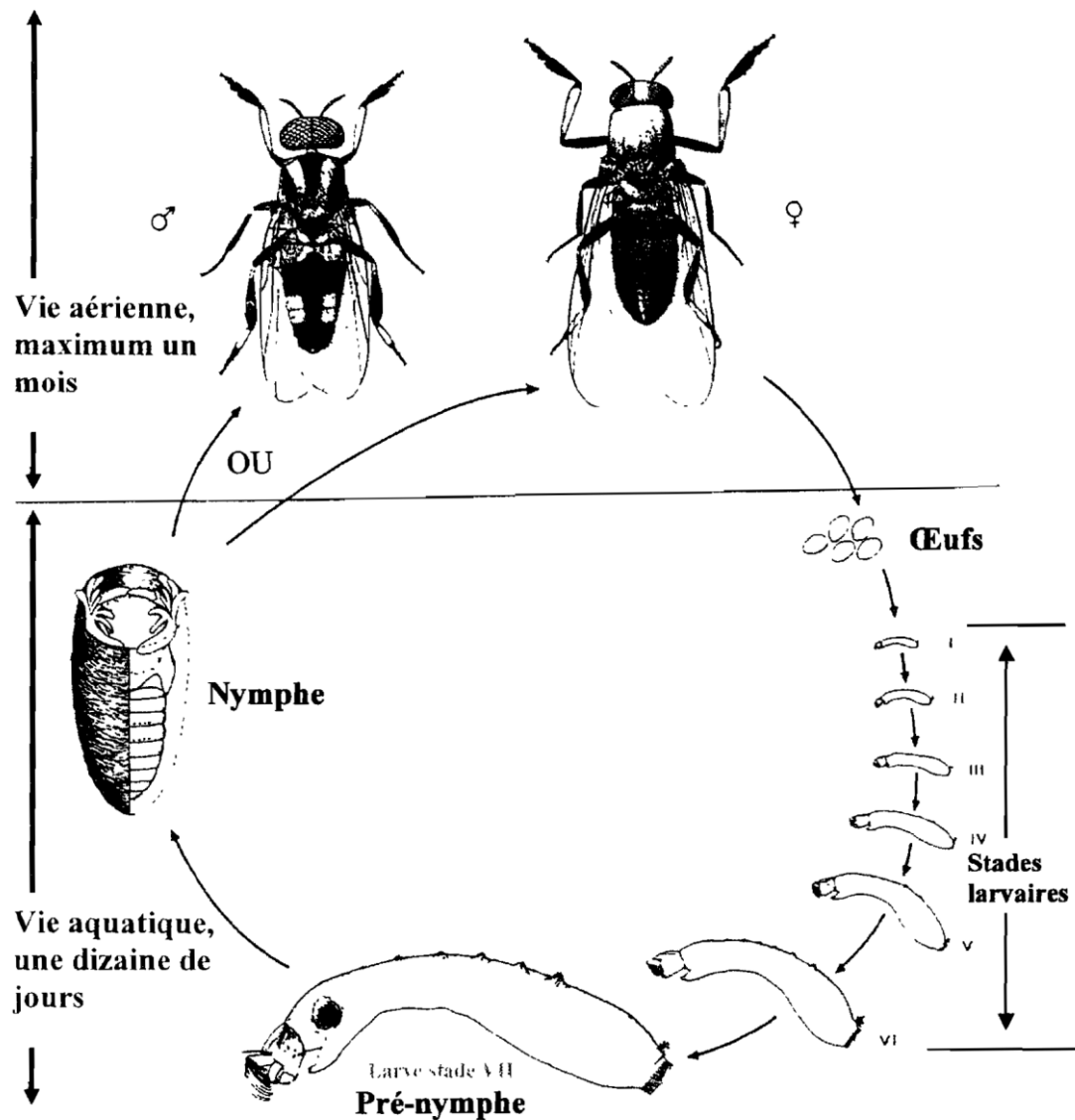


Figure 9 : Cycle vital de *Simulium damnosum* s.l. (Crosskey, 1990)

I-2-3-2- Morphologie des différentes formes

✚ Œufs

L'œuf de *Simulium damnosum* est ovale, de forme arrondie à la section transversale. Il mesure environ 0,22 mm de longueur, 0,12 mm de hauteur et 0,14 mm de largeur. De couleur blanchâtre à la ponte, ces œufs brunissent à l'air et résistent très peu à la dessiccation (Figure 8).



Figure 10 : Œuf de simulie (URGEM, 2017)

✚ Larves

Les larves de *S. damnosum s.l.* sont allongées et renflées en masse dans la partie postérieure du corps. Elles mesurent entre 0,6 à 0,7 mm de longueur au premier stade et 5 à 6,5 mm au dernier. Elles sont eucéphales c'est-à-dire que la capsule céphalique est bien différenciée et sclérotique. Les antennes sont courtes et grêles. Le thorax porte un pseudopode ventral terminé par des couronnes concentriques en forme de minuscules crochets. L'abdomen est allongé, renflé au niveau du tiers postérieur et vaguement annelé. Il se termine par des couronnes en forme de très petits crochets et porte à son extrémité postérieure des branchies rectales trilobées et rétractiles. L'abdomen peut être recouvert partiellement ou totalement d'écailles tégumentaires. Une fois matures, les larves aquatiques peuvent atteindre une longueur de 5,5 à 9,5 mm. Elles sont mobiles mais se fixent sur des supports immergés dans l'eau (Figure 9).



Figure 11 : Observation microscopique d'une larve de simulie (URGEM, 2017).

✚ Nymphes

La larve tisse un cocon à l'intérieur duquel a lieu la mue nymphale au terme de son septième stade de développement. Le cocon de *Simulium damnosum* s.l est en forme de babouche muni d'un talon. Les nymphes ont l'aspect général d'un adulte enveloppé dans une membrane. Elles sont de couleur jaune-claire 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 (Figure 10).



Figure 12 : Nymphé de simulie (Jennifer, 2015)

✚ Adultes

Les adultes de *Simulium damnosum* s.l mesurent 3 à 4 mm de longueur. Le corps se compose d'une tête, d'un thorax bossu, et d'un abdomen (Figure 11). Les yeux présentent un dimorphisme sexuel. Chez la femelle, ils sont dichoptiques, c'est-à-dire séparés par un front. Chez le mâle, ils sont holoptiques, c'est-à-dire contigus (absence de front) sur la ligne médiane de la tête dont ils occupent toute la partie supérieure. Les mâles sont de couleur noire et les femelles sont plutôt grisâtres. Les deux sexes ont une bande blanche visible sur chacun des tarsi postérieurs. Le mesonotum est très développé et donne à l'insecte son allure bossue. Le postnotum est arrondi. Le tégument est recouvert d'une pilosité diversement colorée. L'abdomen est court, trapu, conique et comprend neuf (9) segments visibles. Les sternites sont réduits. Les mâles ont un point argenté réfléchissant sur leur abdomen qui aide à la reconnaissance par les femelles pendant l'accouplement. Quant aux femelles, leur mâchoire inférieure est plus grande que celle des mâles. Cette mâchoire est dotée d'une rangée de dents utiles pour la morsure (Myers *et al.*, 2013).

A



B



Figure 13 : Photographies de simulies adultes (Oklahoma State University, 2013).

A : Simulie femelle

B : Simulie mâle

I-2-4- Anatomie de la femelle de *Simulium damnosum* s.l

L'anatomie interne des femelles de *Simulium damnosum* s.l est composée de plusieurs appareils dont les plus perceptibles à la dissection sont les appareils digestif et génital (Figure 12). L'appareil digestif se compose de l'intestin antérieur, du jabot, de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur qui se termine par six ampoules rectales (Lewis, 1957). L'appareil salivaire comprend deux glandes salivaires thoraciques et une pompe salivaire. L'appareil excréteur est le même que chez la larve; il est constitué par les tubes de Malpighi (Lewis, 1957). Toutefois, selon l'âge physiologique de l'adulte, ces tubes peuvent être opaques (semi-opaque) ou claire (semi-claire) en lumière transmise. L'appareil génital femelle comprend deux ovaires composés de nombreuses ovarioles. Une spermathèque et des glandes accessoires qui sécrètent la substance gluante qui englobe les oeufs. Chez le mâle, l'appareil génital est de type classique avec deux testicules, deux canaux déferents, un canal éjaculateur et des glandes accessoires (Lewis, 1957).

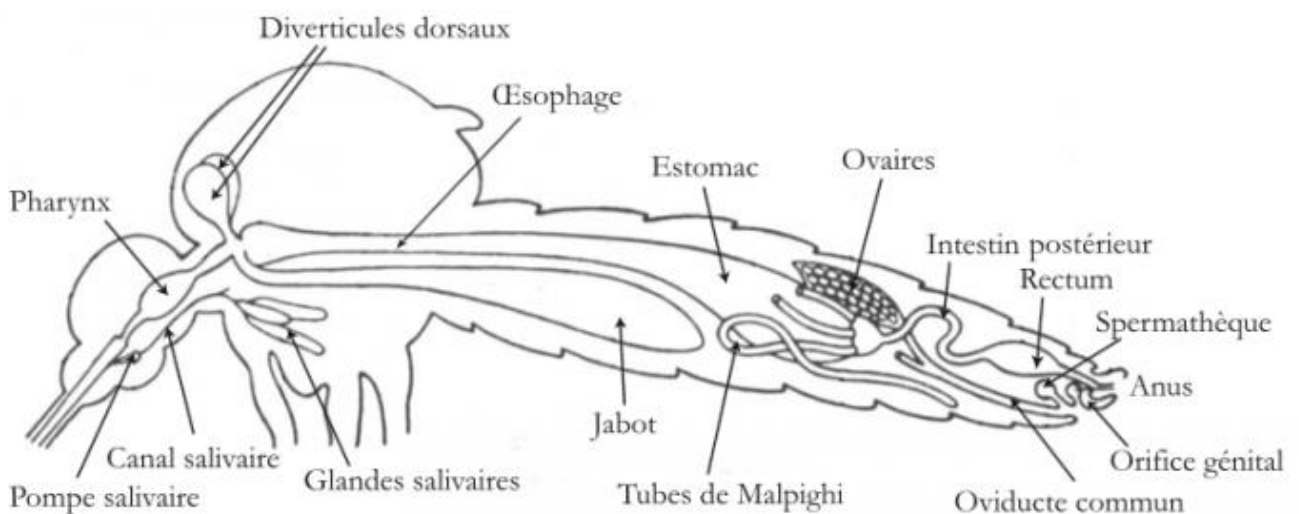


Figure 14 : Anatomie interne de la femelle de *Simulium damnosum* s.l. (Lewis, 1957)

I-2-5- Déplacements des simulies

Deux différents types de déplacements sont schématiquement observés chez *Simulium damnosum* s.l. Selon la distance à parcourir à partir du lieu de la reproduction, il y a les déplacements de faible et de moyenne amplitude, et des déplacements de grande amplitude (Le Berre, 1966).

I-2-5-1- Déplacements de faible et moyenne amplitudes

Les déplacements actifs de faible amplitude sont motivés par la satisfaction d'un besoin physiologique de l'insecte. Il s'agit de la recherche d'un repas de jus sucré ou de nectar des fleurs, d'un repas sanguin, de la recherche d'un lieu de repos ou de ponte. Les déplacements actifs de moyenne amplitude correspondent aux déplacements dispersifs. Ces déplacements peuvent atteindre plusieurs dizaines de kilomètres à partir des lieux de développement. L'amplitude de déplacement est conditionnée par des facteurs propres à l'insecte tels que la puissance et la rapidité de vol, l'âge physiologique etc, mais aussi des facteurs qui lui sont extrinsèques comme la climatologie, la météorologie et les types de couvert végétal (Le Berre, 1966). En analysant la dispersion des femelles par la combinaison des facteurs climatiques tels que la saison de pluie, la saison sèche et la zone bioclimatique, Le Berre (1966) définit deux types de dispersions : la dispersion radiaire et la dispersion linéaire (Figure 13). La première se produit dans toutes les directions à partir des gîtes. La seconde se produit uniquement le long des cours d'eau à partir des gîtes.

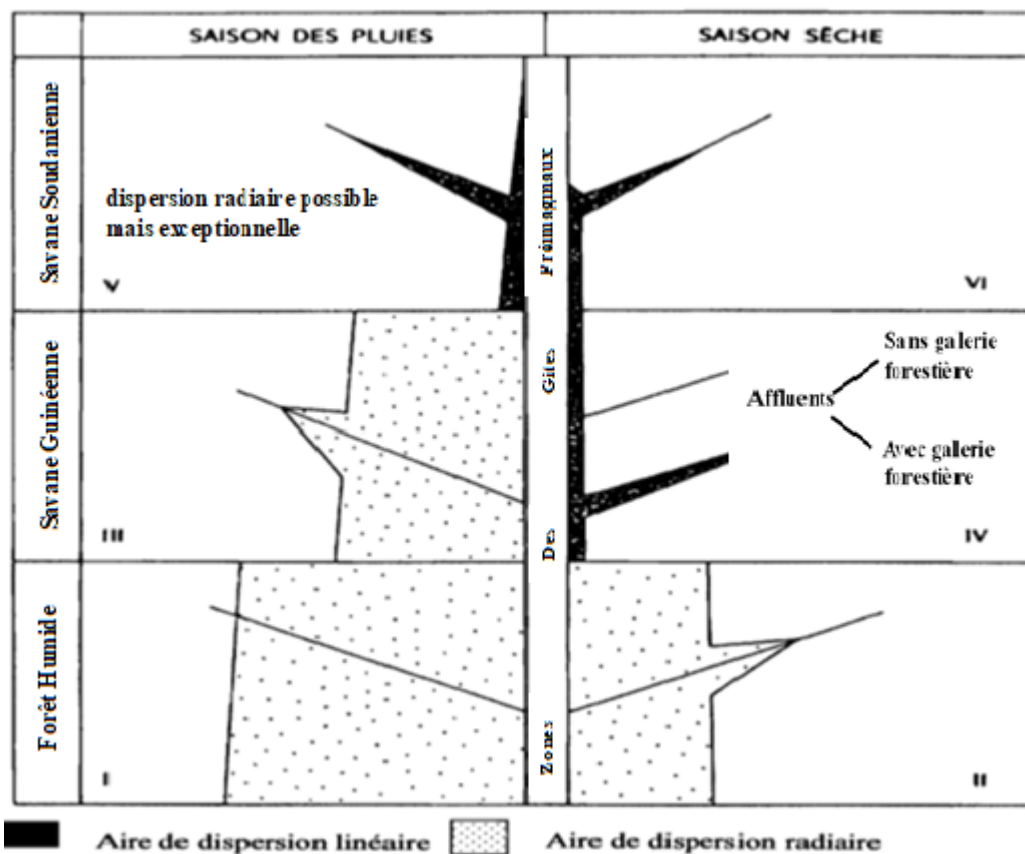


Figure 15 : Variation de l'aire de dispersion des femelles de *S. damnosum* s.l. en fonction de la zone bioclimatique et de la saison. (Le Berre, 1966)

I-2-5-2- Déplacements de grande amplitude

Les déplacements de grande amplitude chez *Simulium damnosum* s.l en Afrique de l'Ouest relèvent du type de mouvement migratoire (Le Berre, 1966). Ils peuvent atteindre quelques centaines de kilomètres à partir des lieux de développement, surtout en altitude à cause des vents saisonniers. Ces vols peuvent être considérés comme actifs dans une certaine mesure, car la femelle bat des ailes durant ces vols. Il existe deux types de mouvement migratoire simulidienne correspondant aux vents dominants saisonniers en Afrique de l'Ouest (Le Berre, 1966).

❖ Une migration Sud-ouest/Nord-est, sous l'effet de la mousson, vent marin chaud et humide soufflant de la mer vers la terre, juste avant le début de la saison des pluies. A la faveur de ces vents, les amplitudes de déplacements sont maximales et sont à l'origine de la ré-infestation saisonnière des foyers de gîtes préimaginaux non permanents par des femelles de *S. damnosum* s.l. Il y a une corrélation entre la montée vers le nord du front inter-tropical de mousson (FIT) et le repeuplement simulidien des foyers temporaires très septentrionaux, à partir des foyers permanents plus méridionaux (Ovazza *et al.*, 1965 ; Philippon & Balay, 1967). Ce phénomène est parfois qualifié de ré-invasion. Elle peut être définie comme étant l'arrivée dans un périmètre régulièrement traité et assaini, de simules provenant d'ailleurs (Le Berre, 1966).

❖ Pendant la saison sèche, l'harmattan, vent chaud et sec, peut aussi être à l'origine du transport de simules (Baker *et al.*, 1990 ; Bissan *et al.*, 1995). Cette migration se fait dans le sens Nord-Est/Sud-Ouest, et nommée ré-invasion inverse. Elle semble être de moindre amplitude et plus localisée car les gros réservoirs simulidiens assez productifs en saison d'harmattan sont pour la plupart situés en zone de basses latitudes.

I-2-6- Surveillance entomologique

La surveillance entomologique débute par la capture des simules sur appât humain (Figure 14), suivie de leurs identifications par des critères morphologiques et de la recherche par dissection classique de l'agent pathogène de la maladie (*O. volvulus*). L'utilisation de l'homme comme appât est d'usage courant pour la capture de nombreux insectes hématophages. La surveillance entomologique aboutit à la mesure d'indices entomologiques dont l'interprétation permet de prendre les décisions adéquates pour faire face à une éventuelle recrudescence de l'infection onchocercarienne.



Figure 16 : Capture sur appât humain (URGEM, 2017)

I-2-7- Indicateurs entomologiques

Les indicateurs entomologiques utilisés pour mesurer l'intensité de la transmission d'*Onchocerca volvulus* dans une zone donnée sont les potentiels de transmission. Ils sont calculés comme étant le produit du nombre théorique de piqûres de simulies reçues par un individu en un endroit donné, et du taux d'infectiosité de ces simulies correspondant au nombre moyen de larves infectantes par simolie. Ils peuvent être calculés sur une année, appelés potentiel annuel de transmission (PAT) (Duke, 1968b ; Duerr *et al.*, 2010) ou sur un mois, Potentiel Mensuel de Transmission (PMT) (Walsh *et al.*, 1978 ; Duerr *et al.*, 2010). Les potentiels de transmission dépendent de multiples facteurs d'ordre climatique comme la pluviométrie et l'anthropie qui sont les modifications de l'environnement. Cela rend les comparaisons entre différents foyers et l'interprétation de leur évolution dans le temps délicates (Renz, 1987 ; Renz & Wenk, 1987 ; Hoerauf, 2011). Par ailleurs, dans les zones où les activités de lutte ont permis de contrôler la maladie, la prévalence de l'infection dans la population des vecteurs a été considérablement réduite. D'un point de vue statistique, de plus en plus de simulies sont nécessaires pour obtenir des estimations fiables de la prévalence (Hoerauf, 2011).

I-2-8- Dynamique des populations de *Simulium damnosum* s.1

I-2-8-1- Evolution des populations de vecteurs.

La densité des populations préimaginales et imaginales de *Simulium damnosum* s.1 et la variation saisonnière du niveau des cours d'eau, permettent de distinguer quatre types de

variations des populations simulidiennes (Anonyme, 2002). Il s'agit de la variation synchrones avec le niveau de l'eau, la variation inverse, la variation bimodale et la variation unimodale.

+ Variations synchrones avec le niveau de l'eau

Ce type de variation caractérise souvent les grands cours d'eau des régions forestières d'Afrique occidentale, mais également ceux des régions de savane. Les femelles apparaissent au début de la saison des pluies, atteignent leur maximum au plus haut niveau des eaux et disparaissent peu après la fin de l'écoulement au début de la saison sèche. En règle générale, c'est la quantité des végétaux immergés qui détermine l'abondance des populations simulidiennes (OMS, 2002).

+ Variations inverses

Ce type se rencontre en région de savane sur certains cours d'eau dont les gîtes n'existent qu'à l'étiage, lorsque les rochers du fond du lit donnent naissance à des rapides. Les larves ne s'installent qu'en saison sèche, lorsque le cours d'eau se stabilise au niveau inférieur (OMS, 2002).

+ Variations bimodales

Ce type de variations est celui de cours d'eau plus ou moins encaissés de régions de savane. Des gîtes préimaginaux existent, lorsque le cours d'eau est stabilisé à son niveau inférieur (densités simulidiennes moyennes) ou supérieur (densités élevées) (OMS, 2002).

+ Variations unimodales

Ce type de variation caractérise les cours d'eau de savane sèche. Dès la reprise de l'écoulement, elles hébergent des stades préimaginaux et la période du maximum des eaux correspond à celle de la plus forte productivité simulidienne (OMS, 2002). Il en est de même des petits cours d'eau de forêt, pour lesquels la saison d'activité démarre à la fin de la saison des pluies, lorsque le niveau d'eau est stabilisé.

I-2-8-2- Activité de piqûres des femelles de *S. damnosum* s.l.

L'activité d'un insecte varie en fonction des différentes heures du jour et de la nuit, on parle de rythme d'activité. Pour les insectes hématophages, le rythme de piqûre revêt une importance particulière car il détermine la méthode de capture et permet d'expliquer l'épidémiologie des maladies transmises (Anonyme, 2002 ; Cupp *et al.*, 2011).

Chez les simules, l'activité de piqûres est uniquement diurne (Simaro *et al.*, 2019). Quel que soit l'appât (homme, animaux), la température demeure le principal facteur limitant de ladite activité. Toutefois, les femelles réagissent différemment aux variations de température selon

l'âge (Barro, 2015). Les femelles pares tolèrent des températures plus élevées que les nullipares. Les facteurs climatiques (vent, ensoleillement, température, pluie) peuvent donc modifier le nombre et la répartition horaire des captures.

I-2-8-3- Préférences trophiques des simulies.

Les femelles de *Simulium damnosum* s.l. ne sont pas exclusivement anthropophiles ; elles sont aussi zoophages ou zoophiles (Anonyme, 2002 ; Oguttu *et al.*, 2014). La zoophilie peut être étudiée de manière directe ou indirecte. La méthode directe consiste à observer et à capturer les femelles venant prendre leur repas de sang sur divers animaux. Les méthodes indirectes consistent lors des dissections, à noter les femelles infectées par les filaires animales et à déterminer l'origine des repas de sang lorsqu'on en rencontre.

En zone de savane soudanienne et guinéenne, les femelles de *S. damnosum* s.s. et *S. sirbanum* sont essentiellement anthropophiles (Anonyme, 2002). Cependant, en l'absence d'hôte humain, ces espèces peuvent être totalement zoophiles. En secteur préforestier, elles piquent l'homme et les animaux (Anonyme, 2002). Dans ce même secteur, les femelles de *S. soubrense* et *S. sanctipauli* sont nettement zoophiles. En zone forestière, les femelles du complexe *S. sanctipauli* présentent généralement une anthropophilie-zoophilie facultative (Anonyme, 2002). L'espèce *S. sanctipauli* s.s. est néanmoins plus volontiers zoophile. Par contre les simulies du complexe *S. squamosum*, espèces des petites rivières de forêt ou des zones de montagnes, sont essentiellement anthropophiles (Anonyme, 2002).

I-3- PARASITE

I-3-1- Systématique d'*Onchocerca volvulus*

L'agent pathogène responsable de la volvulose humaine est un ver rond de la famille des nematodes du genre *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893). Sa position systématique est la suivante :

Règne	:	Animal
Embranchement	:	Nématelminthes
Classe	:	Nématode
Sous-classe	:	Phasmidae
Ordre	:	Spiruridae
Sous-ordre	:	Spirurina
Super-Famille	:	Filarioidea
Famille	:	<i>Onchocercidae</i>
Sous-Famille	:	<i>Onchocercinae</i>
Genre	:	<i>Onchocerca</i>
Espèce	Exemple :	<i>Onchocerca volvulus</i> (Leuckart, 1893)

I-3-2- Identification morphologique des microfilaires et de la forme adulte

I-3-2-1- Microfilaires

Les microfilaires (stade L1), dépourvus de gaine, mesurent 250 à 300 μm de long sur 5 à 9 μm de large (Banas & Collomb, 2013). Très mobiles, elles se déplacent en effectuant de brusques mouvements de contorsion. Leur extrémité antérieure est légèrement dilatée en «baguette de tambour» et leur extrémité caudale est courbée et effilée. Elles se raccourcissent et s'épaississent pour devenir des larves L2, puis doublent de longueur et deviennent robustes et très actives : ce sont les larves infectantes L3 (Figure 15) (Myers *et al.*, 2013).

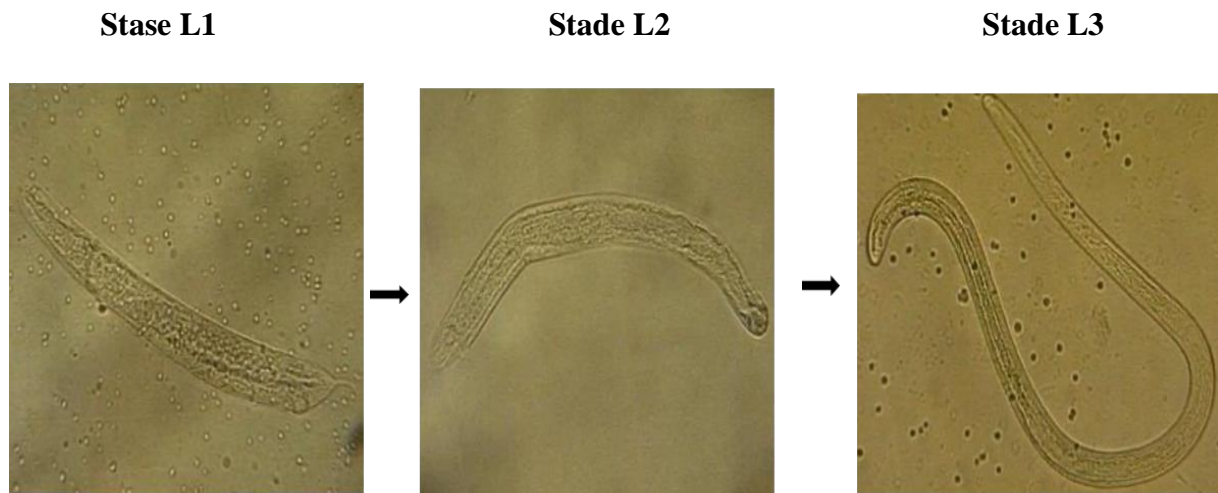


Figure 17 : Transformation d'une larve d'*Onchocerca volvulus* : passage du stade L1 au stade L3 (Surugue & Philipon, 1986)

I-3-2-2- Formes adultes

Recouverts d'une cuticule lisse, les onchocerques adultes sont longs et minces, avec des extrémités non pointues (Figure 16). Les mâles mesurent entre 2 et 4 cm de long pour une largeur de 130 à 210 μm (Anonyme, 2013). Les femelles sont plus grandes et plus larges que les mâles, mesurant 35 à 70 cm de long pour 270 à 400 μm de large. Elles vivent pelotonnées dans les nodules cutanés. Les vers adultes n'ont pas de capsule buccale. La bouche est entourée de 2 cercles constitués chacun de 4 papilles mais elle est dépourvue de lèvres et l'œsophage n'est pas divisé. L'extrémité postérieure des mâles est recourbée ventralement et porte 6 à 8 paires de papilles post-anales et 4 paires de papilles anales. Chez les femelles, la vulve se trouve directement derrière l'extrémité postérieure de l'œsophage (Myers *et al.*, 2013).



Figure 18 : *Onchocerca volvulus* adultes.

A : Onchocercus adulte observé au microscope (Surugue *et al.*, 2005)

B : Onchocercus adultes extraits de nodules cutanés : femelle à gauche et mâle à droite (Taylor *et al.*, 2010)

I-3-3- Cycle de développement du parasite

Bien que le parasite ait été signalé à l'état naturel chez le singe araignée (*Ateles geoffroyi*) au Mexique (Caballero & Barrera, 1958) et chez le gorille (*Gorilla gorilla*) au Congo Brazzaville, l'homme est le seul hôte définitif naturel d'*Onchocerca volvulus* (Van den Berghe *et al.*, 1964). Cependant, il est possible de le transmettre expérimentalement chez le chimpanzé (*Pan troglodytes*) et chez le singe mangabey (*Cercocebus atys*) (Duke, 1968a ; Eberhard *et al.*, 1991 ; Eberhard *et al.*, 1995).

I-3-3-1- Différents stades d'*Onchocerca volvulus* au cours du cycle parasitaire

La filaire *Onchocerca volvulus* passe par plusieurs stades au cours d'un cycle de développement (Figure 17). Le cycle de développement de ce parasite se déroule en partie chez l'homme, hôte définitif, et chez la simule qui est hôte intermédiaire.

✚ Chez la simule

Lors de la piqûre d'un hôte infecté, les pièces buccales de l'insecte dilacèrent les tissus dermiques (telmophagie) et les microfilaries présentes dans les espaces lymphatiques se mêlent au microhématome. L'ingestion du sang provoque très rapidement la sécrétion d'une membrane péritrophique par les cellules digestives de la simule. Cette membrane, renfermant de la chitine, des protéines et des mucopolysaccharides entoure complètement la masse sanguine (Ramos *et al.*, 1994). Elle s'épaissit et à la sixième heure suivant le repas, elle est entièrement

solidifiée et commence à brunir. A la vingt-quatrième heure, elle noircit et subit un début de digestion. Les microfilaires emprisonnées dans la poche sanguine restent mobiles pendant environ 12 heures (Philippon & Bain, 1972). Certaines microfilaires échappent à cet emprisonnement et se trouvent libres entre la membrane périphérique et la paroi stomacale. Elles traversent alors activement la paroi de l'estomac, se retrouvent dans l'hémocèle, puis migrent vers les muscles thoraciques, où elles se raccourcissent et s'épaississent pour aboutir à une forme couramment désignée « forme en saucisse ». Le stade saucisse correspond au premier stade larvaire (L1) du parasite. Les larves L1 subissent ensuite deux mues successives pour devenir des larves de troisième stade (L3). Ces larves, d'environ 650 µm de long et très mobiles vont quitter les muscles thoraciques pour gagner la partie céphalique et les pièces buccales de la simule, notamment le labium (gaine de la trompe) (Bain, 1971). Une fois dans la tête, les L3 sont appelées larves infectantes et la simule devient potentiellement infectieuse pour l'homme. La durée du développement des stades larvaires chez le vecteur dépend de la température extérieure. Elle est de sept jours pour une température comprise entre 25 ° et 30 °C mais peut varier en forêt entre 6 jours et 12 jours si la température est inférieure à 18 °C. Cette durée étant supérieure à l'intervalle entre deux repas sanguins (quatre à six jours), la simule ne peut transmettre des larves infectantes à un nouvel hôte qu'au cours de son troisième repas de sang (Pion, 2004).

Chez l'homme

Au cours d'un repas de sang infectant, la simule replie son labium qui éclate sous la pression des larves. Les larves L3 ainsi déposées sur la peau du sujet pénètrent activement dans le derme de l'hôte à travers la plaie causée par la piqûre. Elles vont se loger au niveau des tissus sous-cutanés où elles se développent pour donner des filaires adultes. Le passage de la larve infectante au stade adulte reste mal connu. Il a cependant été observé *in vitro* que la mue des L3 vers le stade L4 se produisait après cinq à dix jours (Lok *et al.*, 1984). Au cours d'une dernière mue, qui intervient trois à six mois plus tard, la larve se transforme en ver adulte. Les vers mâles et femelles s'entrelacent dans des nodules au niveau du tissu sous-cutané de la peau. Après s'être accouplés, le ver femelle pond environ 1000 larves de microfilaires par jour dans le tissu environnant (OMS, 2018). Ces derniers se déplacent à travers tout le corps humain dans le tissu sous-cutané. Lorsqu'ils meurent, ils déclenchent une réaction inflammatoire. Celle-ci provoque des prurits, des lésions, des démangeaisons intenses et une dépigmentation de la peau. Les microfilaires migrent également jusque dans les yeux, où ils causent une inflammation et d'autres complications qui peuvent conduire à la cécité. Ils ne poursuivent leur développement

qu'après avoir été ingérées par des simulies, seuls vecteurs connus d'*Onchocerca volvulus*. Leur durée de vie varie de 6 à 24 mois chez l'homme (Pion, 2004).

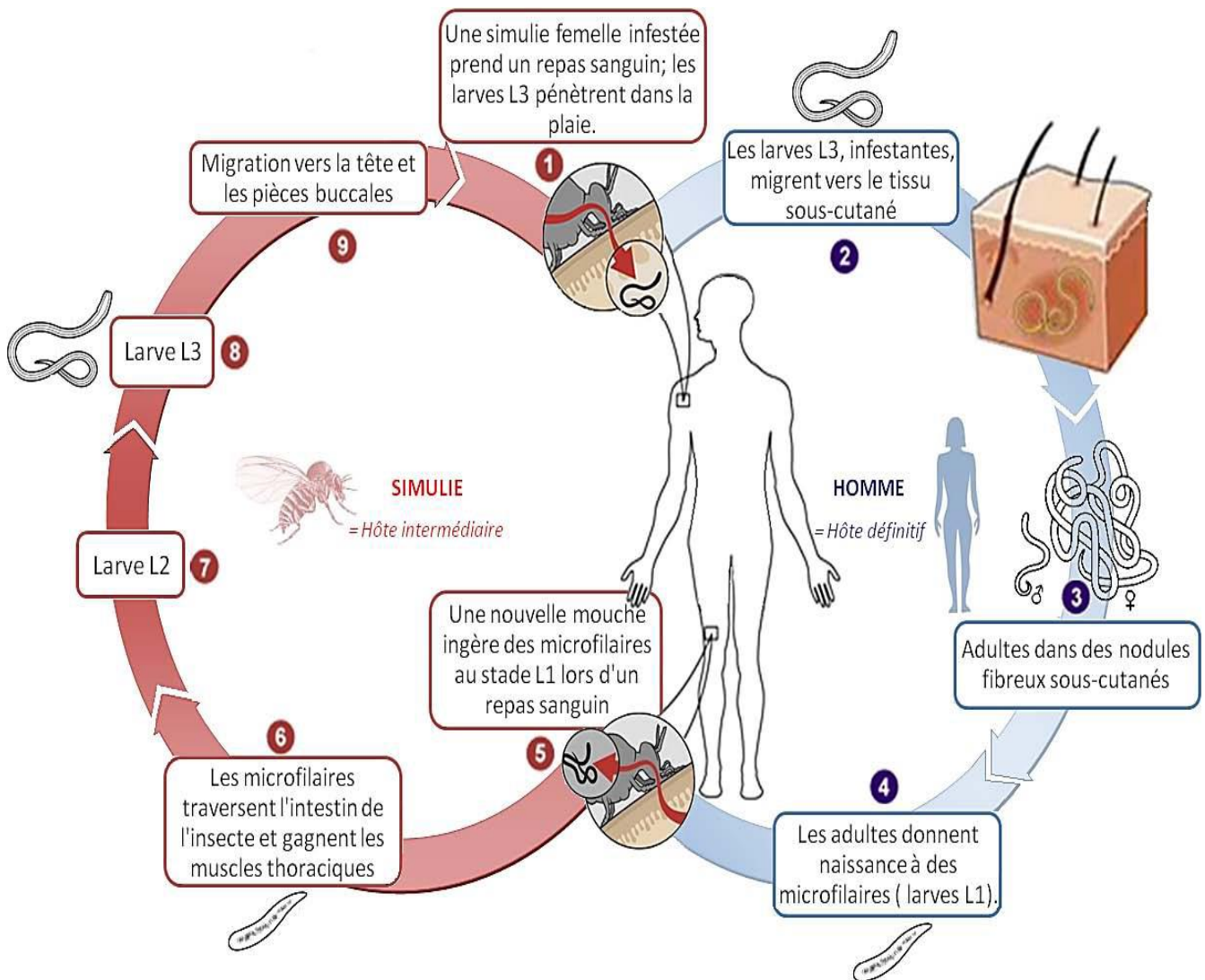




Figure 19 : Cycle de développement d'*Onchocerca volvulus* (CDC, 2013)

 Stade évolutifs chez la similie (genre *Simulim*)
 Stade évolutifs chez l'homme

I-3-3-2- Relation vecteur / parasite

En Afrique, les simulies du complexe *Simulium damnosum* piquent préférentiellement au niveau des membres inférieurs. Le nombre de microfilaires ingérées par les simulies piquant un sujet donné au niveau d'une même région anatomique peut être très variable. La moyenne du nombre de microfilaires ingérées est en général étroitement liée à la charge dermique de l'individu (Basáñez *et al.*, 1994 ; Traoré *et al.*, 1997). Chez certains sujets, des modifications de la texture de la peau consécutives à l'infection onchocercienne rend les microfilaires moins accessibles pour les simulies (Duke, 1968c). Les microfilaires ne peuvent poursuivre leur évolution chez le vecteur que si elles parviennent à passer la membrane péritrophique pour atteindre l'hémocèle. L'essentiel de la réduction de la charge parasitaire chez la simulie est dû à l'emprisonnement des microfilaires dans cette membrane (Bain & Philippon, 1970). Chez les espèces savaniques *S. damnosum* s.s. et *S. sirbanum*, la proportion de microfilaires passant dans l'hémocèle est donc d'autant plus faible que le repas en contient beaucoup. Ce phénomène est appelé phénomène de limitation (Basáñez *et al.*, 1994). A la différence de ces dernières, chez les espèces de forêt, le nombre de microfilaires passant dans l'hémocèle est proportionnel à la quantité de parasites ingérés (Philippon, 1977). La mortalité du parasite à ce niveau du cycle de développement, n'influence pas significativement la dynamique de transmission. Cependant, il est possible d'affirmer l'existence du rôle réductionnel considérable de la simulie dans la transmission du parasite (Oguttu *et al.*, 2014). La réponse immunitaire de *S. damnosum* s.l. à l'infection par *O. volvulus* a très peu été étudiée.

I-4- EPIDEMIOLOGIE DE L'ONCHOCERCOSE

I-4-1- Différents faciès épidémiologiques

C'est après la mise en évidence de la présence d'*Onchocerca volvulus* en Amérique que Brumpt (1919), observe les différences cliniques entre l'onchocercose américaine et l'onchocercose africaine. D'où, il conclut l'existence d'une filaire à *Onchocerca* américaine différente de celle d'Afrique. Il la nomma *Onchocerca caecutiens*, « la filaire qui aveugle ». Contrairement au parasite d'Amérique, Brumpt considère que celui d'Afrique atteint très peu les tissus de l'œil et provoque l'éléphantiasis génital décrit par Ouzilleau (1913) et Dubois (1917).

L'idée que l'onchocercose revêt en Afrique des faciès épidémiologiques différents selon les zones bioclimatiques apparaît suite aux observations de Budden en 1963. Cette notion est alors très vite simplifiée sous les termes d'onchocercose « de savane » opposée à une onchocercose « de forêt ». De nombreuses études viennent confirmer cette théorie. Ainsi, en savane, dans les

zones de forte endémie, les lésions oculaires graves apparaissent très précocement et montrent des prévalences très élevées (Yapi *et al.*, 2014 ; Simaro *et al.*, 2019). Par contre, en forêt, les premières lésions oculaires apparaissent plus tardivement, et leurs prévalences sont peu élevées (Picq, 1983). De plus, les atteintes cutanées semblent être plus caractéristiques du faciès de forêt. Cette différence de tableau clinique entre savane et forêt est liée à l'existence de différentes souches de parasites (Duke *et al.* 1966). Pour mettre en évidence l'existence des souches de parasites distinctes, une série d'expériences de développement de parasites de savane chez des vecteurs de forêt, et inversement a été menée par Duke et ses collaborateurs en 1966. Ils observent que des microfilaires provenant de zones forestières du Cameroun se développent bien chez les vecteurs de zones forestières d'Afrique de l'ouest, mais pas chez les vecteurs savaniques de cette zone. A l'inverse, les microfilaires provenant de zone de savane du Cameroun se développent chez les vecteurs savaniques d'Afrique de l'ouest, mais pas chez les vecteurs forestiers de cette même zone. Ces auteurs concluent l'existence de deux souches distinctes correspondant à deux complexes vecteurs-parasites différents. Cependant, ils déduisent de leur étude que les deux souches d'*O. volvulus* sont caractérisées par des différences de pouvoir pathogène, de longévité des stades adultes, et de susceptibilité aux traitements chimiothérapeutiques.

I-4-2- Répartition de la maladie en Afrique

En Afrique, la limite septentrionale de l'onchocercose, coïncide approximativement avec le 15^{ème} parallèle, soit du Sénégal au Mali et du Niger au Tchad (Figure 18). Cette limite remonte au sudan jusqu'à la région d'Abou Hamed à 19 ° 15' de latitude nord pour redescendre ensuite sur l'Ethiopie. Plus au sud, les foyers de la maladie se rencontrent en Gambie, en Guinée-Bissau, en Guinée Conakry, au Sierra Léon, au Libéria, au Mali, en Côte d'Ivoire, au Burkina Faso, au Ghana, au Togo, au Bénin, au Nigéria, au Cameroun, en Guinée équatoriale, en République Centrafricaine, au Congo, au Rwanda, au Burundi et en Ouganda (OMS, 2013b). La limite méridionale de la maladie commence en Angola, s'étend aux alentours de la frontière de la Zambie pour atteindre au Congo un point situé à 8 ° de latitude sud. Elle redescend ensuite pour atteindre son point le plus méridional dans le district de Cholo au Malawi à 17 ° de latitude sud. Puis, elle remonte jusqu'en République-Unie de Tanzanie à 12 ° de latitude sud. La maladie a été éliminée au Kenya, à l'exception d'un petit foyer qui subsiste à la frontière avec l'Ouganda. L'une des plus vastes régions d'endémicité de l'onchocercose est le bassin de la Volta, qui englobe le Burkina Faso et des parties du Bénin, de la Côte d'Ivoire, du Ghana, du Mali, du Niger et du Togo (Anonyme, 2002).

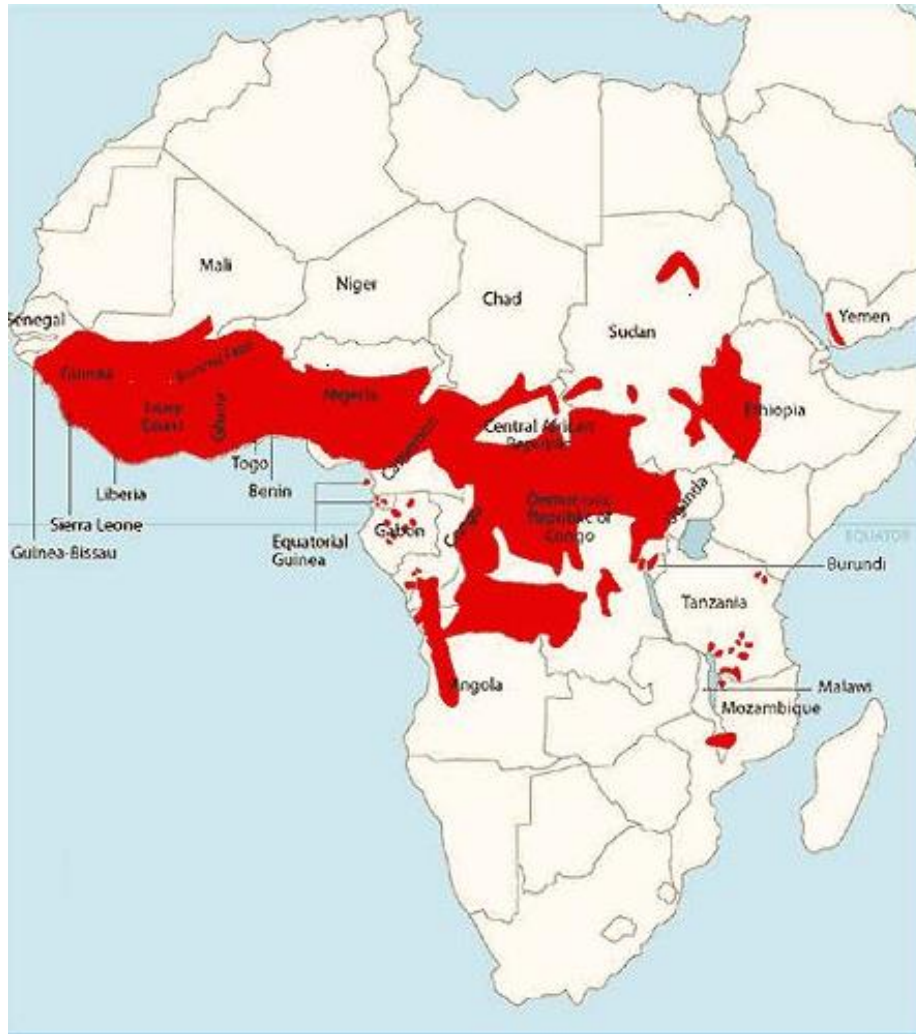


Figure 20 : Répartition de l'onchocercose en Afrique (Pion, 2004)

I-4-3- Situation épidémiologique de l'onchocercose en Côte d'Ivoire

La Côte d'Ivoire est entièrement située dans la zone onchocerquienne Ouest-Africaine. Tous ses bassins fluviaux sont affectés notamment les grands bassins du Cavally, du Sassandra, du Bandama et de la Comoé, fleuves côtiers atlantiques (San-Pedro, Niouniourou, Boubo, Go, Agnéby, Mé, Bia, Tanoe, etc...). La situation épidémiologique du pays, a été jugée suffisamment saine avant même la clôture d'OCP fin 2002 (IRIN, 2007) (Figure 19 a, b, c). Les traitements insecticides ont été définitivement interrompus partout en Côte d'Ivoire, sans encourir de risques de recrudescence de la transmission qui ne fussent pas contrôlables par l'ivermectine dans le cadre du Programme National de Santé Oculaire et de la Lutte contre l'Onchocercose. Conséquemment, aucun foyer ivoirien n'a fait l'objet d'une zone d'intérêt spécifique dans laquelle le traitement à l'ivermectine sous Directive Communautaire (TIDC)

aurait été renforcé pendant quelques années après 2002, avec ou sans poursuite des traitements anti vectoriels (IRIN, 2007). Depuis les évaluations de 2000 à 2002 qui ont précédé la clôture d'OCP, seulement deux enquêtes épidémiologiques ont eu lieu dans quelques bassins en 2005 et 2006 dans 19 et 9 villages respectivement (IRIN, 2007). Seul un des villages prospectés en 2005 (Asséeékro) et un de ceux qui l'ont été en 2006 (Golokaha) ont été revus en 2007. L'enquête de juin - juillet 2007, réalisée avec une méthodologie rigoureuse, a porté sur 38 villages bien répartis (Figure 19 c). Un seul foyer est visité pour la première fois, les autres l'ayant été en moyenne 5,5 fois. Depuis le début des traitements, seuls 10 de ces 38 villages avaient déjà été visités entre 2000 - 2002 (Figure 19 b), et ils sont malheureusement concentrés essentiellement sur trois bassins (Sassandra, Comoé et N'zi) (IRIN, 2007).

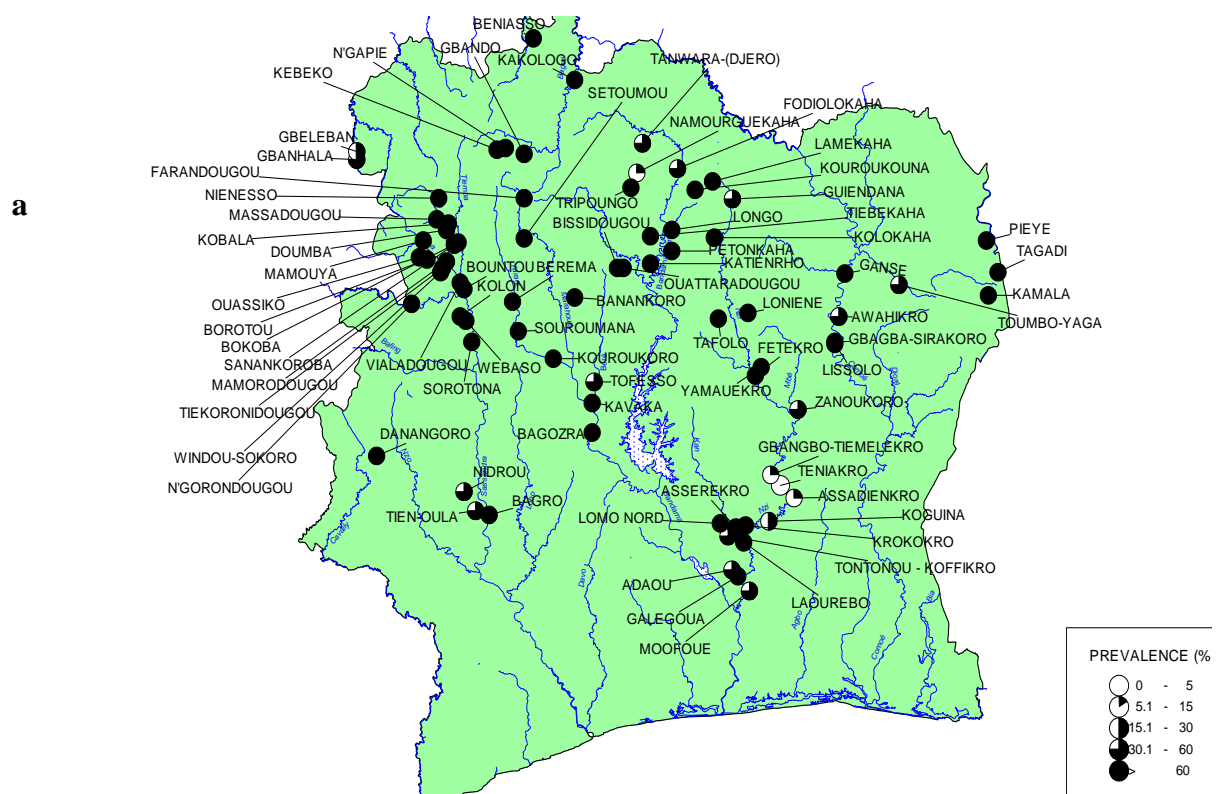


Figure 21a : Evaluation épidémiologique de l'Onchocercose en Côte d'Ivoire :
Situation de prétraitement (IRIN, 2007)

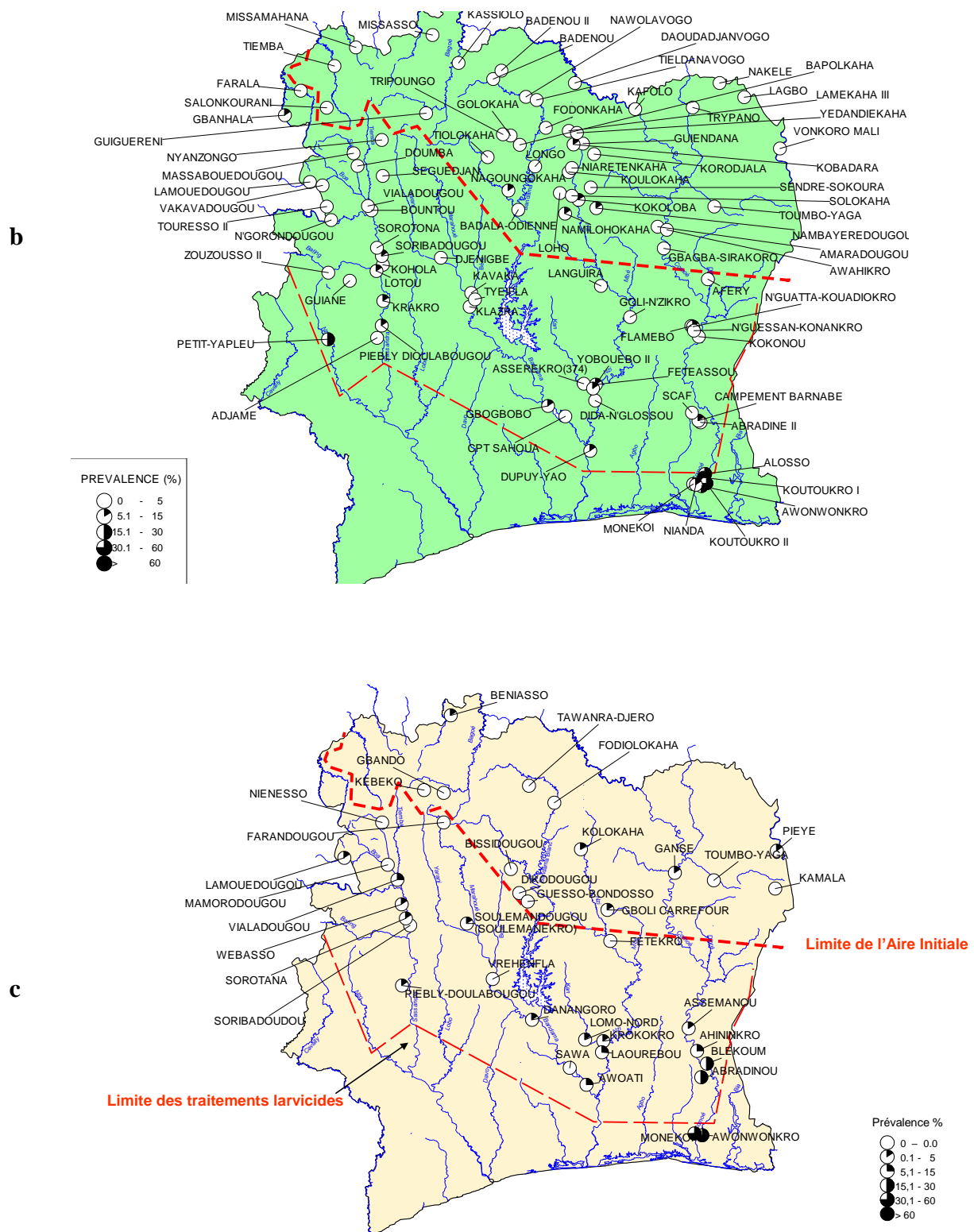


Figure 21 : Evaluation épidémiologique de l'Onchocercose en Côte d'Ivoire (IRIN, 2007)

b : Evaluation épidémiologique de l'onchocercose de 2000 à 2002

c : Evaluation épidémiologique de l'onchocercose de juin à juillet 2007

I-5- EVOLUTION DES MODALITES DE LUTTE CONTRE L'ONCHOCERCOSE

I-5-1- Lutte antivectorielle

Les opérations de lutte dirigées contre les simulies adultes n'ont pas donné de résultats satisfaisants hormis dans quelques foyers très limités d'onchocercose. La cause principale de ces échecs tient du fait qu'en règle générale, la dispersion des simulies adultes est importante et leurs lieux de repos très variés. En revanche, les gîtes de reproduction des simulies sont limités à des portions de cours d'eau présentant des chutes et des rapides. A cette échelle, il est possible de mener des interventions localisées en déversant de l'insecticide en amont des gîtes larvaires. La lutte contre les stades larvaires des simulies s'est révélée être une méthode très efficace de contrôle de la transmission d'*Onchocerca volvulus*, et reste à l'heure actuelle, la méthode privilégiée de lutte contre les vecteurs de l'onchocercose (OMS, 2017). Les premières campagnes de lutte antilarvaire ont débuté dès 1946, avec l'utilisation du dichloro-diphényl-trichloréthane (DDT). Le DDT a été utilisé à une très large échelle, en dépit de sa haute toxicité pour l'environnement, notamment pour la faune aquatique vertébrée, jusque dans les années 1970 (Hougard, 2000). A cette époque, la résistance des simulies au DDT commence à apparaître. A la recherche d'un insecticide alternatif au DDT, plusieurs composés, notamment des organophosphorés, furent testés. Parmi ces composés, le téméphos montra la meilleure efficacité vis-à-vis des simulies. De plus il est biodégradable, a un impact négligeable sur les invertébrés aquatiques non-cibles et ne présente aucune toxicité envers les mammifères et les poissons (Hougard *et al.*, 2001). Plusieurs cas de résistance au téméphos ont été signalés à partir de 1980. Malgré cela, ce produit reste aujourd'hui l'insecticide de choix dans les campagnes de lutte contre les simulies dans le monde (Boussinesq & Hougard, 1998). Au niveau local, les campagnes antilarvaires se sont montrées comme des mesures efficaces de contrôle de la transmission de l'onchocercose (OMS, 2002). Cependant, la réussite de ces opérations a été limitée par des phénomènes de réinvasion de sites nettoyés par des simulies provenant de régions voisines non traitées. Alors la nécessité de synchroniser les opérations de lutte sur des larges zones géographiques s'est fait sentir, poussant les différentes équipes à coordonner leurs programmes (OMS, 2002).

I-5-2- Programmes de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest

La démonstration de l'efficacité de la stratégie de lutte contre les stades larvaires des simulies, la nécessité de synchroniser les différentes campagnes de lutte, et les conséquences socio-économiques dramatiques de la maladie, ont conduit à la mise en place, en 1974, du Programme de lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (Onchocerciasis Control

Programme, OCP) (Walsh *et al.*, 1978). Ce programme, mené sous l'égide de plusieurs organismes internationaux (OMS, Banque mondiale, Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD), et Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO)) couvrait initialement sept états d'Afrique de l'Ouest (Bénin, Burkina Faso, Ghana, Côte d'Ivoire, Mali, Niger et Togo). Il a eu pour objectif d'éliminer l'onchocercose en tant que problème de santé publique et de frein au développement socio-économique (Walsh *et al.*, 1978).

Ce programme reposait initialement sur des opérations de lutte anti-vectorielle à grande échelle contre les stades larvaires de *Simulium damnosum* s.l. Son principe a été de stopper la transmission en éliminant les vecteurs pendant une période suffisamment longue pour que le réservoir de vers adultes d'*Onchoceca volvulus* ne soit plus renouvelé. Les activités d'OCP se sont par la suite étendues à 11 pays (en ajoutant la Guinée Conakry, la Guinée Bissau, le Sénégal et la Sierra Leone à l'aire initiale), couvrant jusqu'à 1 253 000 km². A la fin des années 1980, alors que l'impact de l'OCP était déjà perceptible, le programme associe la distribution d'ivermectine comme méthode de contrôle complémentaire (Walsh *et al.*, 1978).

Les activités de l'OCP sont terminées en fin 2002 et chacun s'accorde à dire qu'il s'agit d'un des plus grands succès de l'OMS. Néanmoins, les populations qui ont bénéficié de l'OCP représentent moins de 20 % des individus infectés par *O. volvulus* sur le continent africain (Traoré *et al.*, 2012).

I-5-3- Programme de donation du Mectizan

L'efficacité microfilaricide rapide et prolongée de l'ivermectine ainsi que sa bonne tolérance en font le traitement efficace contre l'onchocercose. En 1987, les laboratoires Merck & Collaborateurs annoncèrent leur décision de fournir l'ivermectine gratuitement aux organisations impliquées dans la lutte contre l'onchocercose et cela, aussi longtemps que nécessaire. La responsabilité des distributions du médicament a été confiée à des organisations non-gouvernementales (ONG) en place dans les pays où l'onchocercose sévit (Figure 20). Pour établir un lien entre le donateur et les ONG responsables des distributions du médicament, Merck met en place son Programme de Donation du Mectizan (Merck Mectizan Donation Program, MDP) et constitue le comité d'experts mectizan (Mectizan Expert Comitee, MEC). Ce comité est constitué d'un groupe d'experts en médecine tropicale et santé publique. Son rôle est d'évaluer les demandes de donation d'ivermectine déposées par les ONG, les

ministères de la santé et les organismes de santé des pays concernés. Depuis la formation du Programme de Donation, le comité a approuvé l'utilisation du mectizan dans 34 pays d'Afrique où l'onchocercose est endémique. En fin 2001, près de 165 millions de traitements ont ainsi été distribués dans le cadre de la lutte contre l'onchocercose (Twum-Danso, 2003).

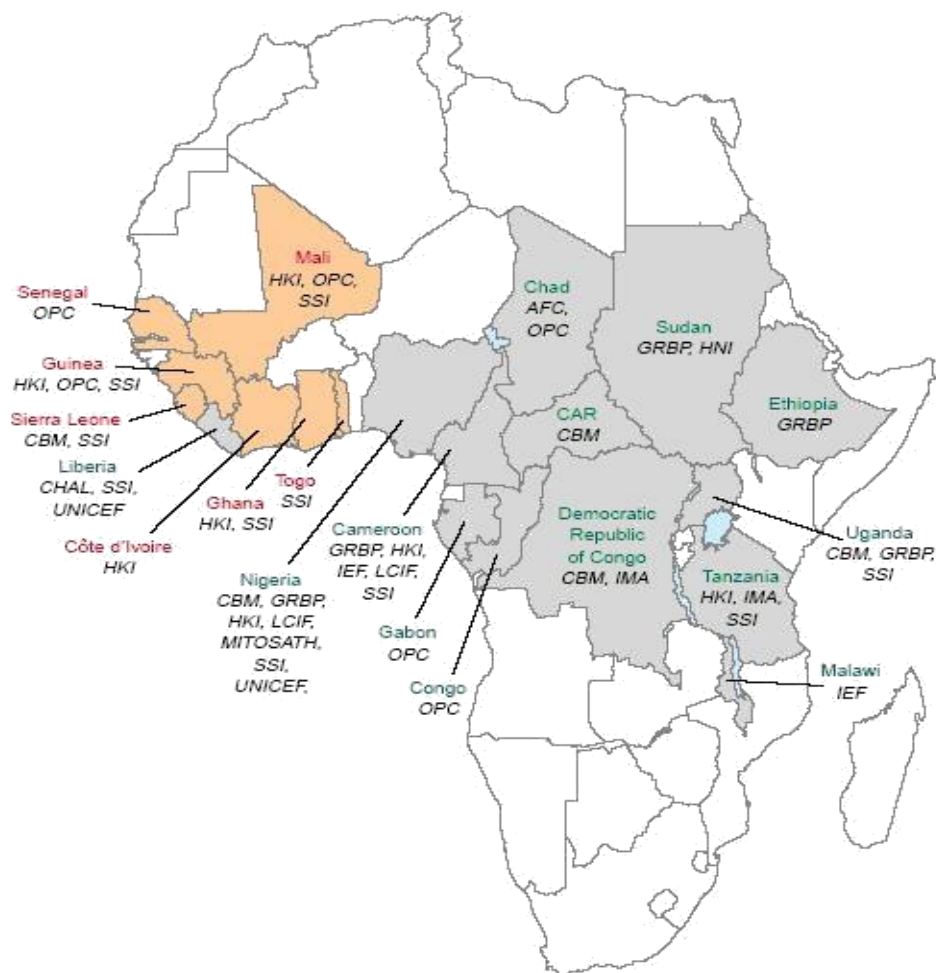


Figure 22 : Aire d'activité des différentes organisations non-gouvernementales (ONG) impliquées dans le Programme de Lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP, zone orange) et dans le Programme africain de lutte contre l'onchocercose (APOC, zone grise).

Abbreviations : AFC : Africare ; CAR : République Centrafricaine ; CBM : Christoffel Blindenmission ; CHAL : Christian Health Association of Liberia ; GRBP : The Carter Center ; HNI : Health Net International ; HKI : Helen Keller International ; IEF : International Eye Foundation ; IMA : Interchurch Medical Assistance ; LCIF : Lions Clubs International Foundation ; MITOSATH : Mission to Save the Helpless ; OPC : Organisation pour la Prévention de la Cécité ; SSI : Sight Savers International ; UNICEF : United States Committee for UNICEF

I-5-4- Programme africain de lutte contre l'onchocercose

Le remarquable succès du programme OCP et l'initiative des laboratoires Merck de faire don du Mectizan® pour le traitement de l'onchocercose, aussi longtemps qu'il le faudrait (Fetting, 1998), ont permis la mise en place de nouveaux programmes de lutte contre l'onchocercose. Il s'agit notamment du Programme Africain de Lutte contre l'Onchocercose (en anglais APOC, pour African Programme for Onchocerciasis Control), lancé en décembre 1995. L'objectif de l'APOC qui couvre 19 pays situés hors de l'aire de l'OCP est « d'éliminer en 12 ans l'onchocercose en tant que problème de santé publique et comme frein au développement socio-économique en Afrique ». Ce programme, prévu pour une durée de 12 ans, repose sur le principe d'appropriation des activités sanitaires par les populations elles-mêmes. Pour y parvenir, l'APOC favorise l'intégration de toutes les activités de lutte dans les systèmes nationaux de soins de santé primaire, et cela, en s'appuyant sur le travail des ONG impliquées. La principale stratégie adoptée par l'APOC est la distribution de traitements de l'ivermectine sous directives communautaires (TIDC). Cette stratégie permet d'abaisser sensiblement les coûts du programme, et laisse également espérer une participation élevée des communautés aux traitements annuels (Katarawa & Richards, 2001). Une telle participation semble nécessaire pour parvenir au contrôle de la maladie en terme de santé publique (Borsboom *et al.*, 2003). Dans le cadre de l'APOC, l'ivermectine est distribuée de façon annuelle, et uniquement dans les villages où la prévalence de l'infection est d'au moins 20 %. Cette stratégie ne devrait pas permettre de stopper la transmission du parasite, mais de l'abaisser à un seuil où l'incidence des cas cliniques est quasiment nulle. Depuis 2002, l'APOC est dans sa seconde phase de six ans et la question de la détermination du niveau d'infestation des larves d'*Onchocerca volvulus* chez les simulies femelles à mi-parcours s'est posée.

I-5-5- Répulsifs antisimulidiens

Compte tenu du potentiel de dispersion des simulies adultes et de la variété de leurs lieux de repos, la lutte contre les simulies n'est efficace que si elle vise l'élimination des stades larvaires aquatiques (Akpoboua *et al.*, 1994). Une autre approche a été recommandée en 1995, qui consiste au recours à d'autres alternatives comme les répulsifs ou les méthodes de protection individuelle contre les piqûres de simulies. En Côte d'Ivoire, une évaluation comparative de trois produits répulsifs (DEET, KIK et essence de citronnelle) sur les simulies a donné des résultats intéressants (Adossi, 1994). En effet, l'essence de citronnelle s'est révélée particulièrement efficace sur les simulies savaniques en Côte d'Ivoire, avec un pourcentage de

protection de 96 % pendant plus de six heures (contre 96 % pendant cinq heures pour le DEET et 82 % pendant deux heures pour le KI K).

La connaissance de la diversité génétique au sein des espèces de *Simulium damnosum* s.l est essentielle à la compréhension des relations hôte-*simuliidae*, du potentiel de vecteur et de la variation géographique des traits associés (Adler & Crosskey, 2012). En raison de la spéciation cryptique étendue et de la forte homogénéité morphologique observée chez *S. damnosum* s.l, une grande partie de la diversité génétique de ce groupe peut être sous-estimée (Adler *et al.*, 2010).

I-6- GENETIQUE DES POPULATIONS NATURELLES

I-6-1- Définition et contexte d'étude

La génétique empirique des populations est l'étude de la distribution des fréquences alléliques et génotypiques dans les populations dans l'espace et / ou le temps. Elle permet d'inférer les paramètres écologiques des populations d'organismes vivants, en particulier pour les espèces dont l'observation directe est difficile. C'est le cas des microorganismes parasites de l'homme et des animaux ainsi que de leurs vecteurs. Utilisée comme méthode indirecte, elle se caractérise par l'utilisation de marqueurs moléculaires (génétiques) polymorphes (variables) et par l'étude des variations de ces marqueurs dans et entre un certain nombre de groupes d'individus prédéfinis comme sous-populations. L'hypothèse de base sous-tendue est que la distribution de la variabilité génétique reflète les paramètres écologiques ou démographiques des organismes étudiés (De Meeûs & McCoy, 2009).

I-6-2- Terminologie de base

Le génome représente l'ensemble du matériel génétique, constitué de molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN), transmis de génération en génération. Le terme chromosome fait référence à la forme condensée de l'ADN. Une séquence d'environ trois milliards de paires de bases constitue l'ensemble de ces chromosomes. Les bases sont les principales molécules qui composent l'ADN. Il en existe quatre : l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T). Chaque base est combinée à un sucre et à un groupement phosphate, ce qui représente un nucléotide. Les gènes, qui sont des fragments d'ADN, déterminent les caractéristiques de chaque individu : l'apparence physique, la vulnérabilité à certaines maladies, la réponse à l'exposition aux facteurs environnementaux, etc. Un locus est une position particulière du gène sur un chromosome. Les différentes formes existantes à un locus donné sont appelées allèles. Une séquence d'allèles reçue du même parent est appelée haplotype.

L'haplotype est donc un fragment chromosomique qui est transmis à la descendance. Pour un certain chromosome, chaque individu se caractérise ainsi par deux haplotypes, provenant l'un du père, et l'autre de la mère. Ces deux haplotypes ainsi reçus définissent le génotype de l'individu aux deux loci. Le génotype d'un individu désigne un ensemble de gènes. Il est constitué de plusieurs paires d'allèles. Généralement, le génotype est noté en séparant les allèles des deux chromosomes par une barre oblique (/). Si les deux allèles sont identiques, par exemple A/A, le génotype est qualifié d'homozygote. Si les allèles sont différents, par exemple A/B, le génotype est dit hétérozygote. Par ailleurs, l'expression du génotype conduit au phénotype. Le mot phénotype désigne l'ensemble des caractères, comme la couleur des yeux, la couleur des cheveux, la taille, le poids de l'individu etc. Il est défini aussi comme l'ensemble des caractères d'un individu résultant des actions conjuguées, de son génotype et de l'environnement dans lequel il évolue.

I-6-3- Diversité génétique

I-6-3-1- Définition

La diversité génétique est définie comme le nombre et la fréquence des gènes polymorphes dans une population (Lu & Williams, 1994). Les informations apportées par l'étude de la diversité génétique sont essentielles dans de nombreux domaines de la recherche comme la génétique des populations, la biologie de la conservation, l'épidémiologie (Balloux & Lugon-Moulin, 2002) ainsi qu'en écologie et évolution (Coyer *et al.*, 1997). Ces informations sont fournies par l'étude de marqueurs génétiques, développés grâce aux progrès des techniques utilisées dans le domaine de la biologie moléculaire.

I-6-3-2- Marqueurs génétiques utilisés dans l'estimation de la diversité génétique

Les marqueurs génétiques sont des caractéristiques héréditaires qui renseignent sur le génotype de l'individu qui les porte (De vienne *et al.*, 2007). Trois types sont largement utilisés pour l'évaluation de la variabilité génétique : les marqueurs morphologiques, les marqueurs biochimiques et les marqueurs moléculaires.

I-6-3-2-1- Marqueurs morphologiques

En sélection classique, les sélectionneurs recherchent des marqueurs simples du génome pour suivre les variations de différents caractères de l'espèce. Chaque espèce est examinée à travers son aspect phénotypique, c'est-à-dire la résultante de l'expression de ses gènes dans un milieu donné. Les marqueurs morphologiques ont été retenus dans un premier temps parce qu'ils présentaient l'avantage d'être immédiatement disponibles. Ils nécessitent seulement un

équipement simple et constituent la mesure la plus directe du phénotype. Ils représentent des variations de type qualitatif (couleur..), morphologiques (forme, taille), des résistances à des maladies. Ces critères sont utilisés pour décrire et identifier les espèces animales. Cependant, ces marqueurs sont peu polymorphes et en général dominants, ils ont fréquemment une base génétique complexe, sont limités en nombre et leur expression est souvent fortement influencée par l'environnement.

I-6-3-2-2- Marqueurs biochimiques

De nombreux marqueurs biochimiques ont été développés depuis une vingtaine d'années. Les marqueurs biochimiques, généralement des isozymes ou des protéines de réserve, ont un pouvoir de discrimination plus élevé que les marqueurs morphologiques. Ils traduisent directement l'activité des gènes. Ils sont neutres et peuvent être révélés dans plusieurs organes à différents stades de développement (Buth & Murphy 1999 ; Bank *et al.*, 2001). Ils sont mis en évidence par électrophorèse, sur la base des propriétés de migration des protéines, et révélés par la coloration histochimique spécifique des enzymes qui sont analysées. Les protéines ont l'avantage d'être plus nombreuses que les marqueurs morphologiques, mais dépendent également de l'organe considéré (De vienne, 2007). Les limitations majeures à l'emploi des isozymes sont le faible nombre de loci susceptibles d'être révélés (rarement plus de quelques dizaines) et la spécificité de l'organe analysé. De plus, les marqueurs biochimiques sont soumis à l'influence de l'environnement.

I-6-3-2-3- Marqueurs moléculaires

Un bon marqueur doit être à hérédité simple, polymorphe, co-dominant, non épistatique, neutre, et insensible au milieu (Bretting & Widrlechner 1995 ; De vienne 2007). Les marqueurs moléculaires répondent bien à ces critères. Contrairement aux marqueurs associés à des caractéristiques morphologiques ou biochimiques, les marqueurs moléculaires révèlent directement les modifications du patrimoine génétique, c'est-à-dire de l'ADN. En effet, le polymorphisme de l'ADN résulte de l'accumulation graduelle de mutations, produisant soit des substitutions nucléotidiques, soit des insertions ou délétions d'une ou plusieurs bases. L'analyse par ces marqueurs peut être réalisée tout au long du développement de l'espèce. Ces marqueurs ont le potentiel d'exister en nombre illimité et couvrant le génome entier. Ils ne sont pas influencés par l'environnement. Parmi ces nouveaux marqueurs moléculaires, les plus utilisés sont : les RAPD (Random Amplified Polymorphie DNA), les RFLP (polymorphisme de longueur de fragment de restrictions), les SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism),

les micro- et minisatellites multilocus, les microsatellites ou répétition simple de séquences (SSR), les séquences d'ADN (ADN mitochondrial ou nucléaire) et les SNP (Polymorphisme Simple Nucléotide ou Single Nucleotide Polymorphisms).

I-6-4- Choix des marqueurs moléculaires

La première étape de l'étude de la variation génétique des populations et des sous espèces consiste à trouver des marqueurs présentant un niveau de variabilité adéquat pour le niveau de résolution souhaité. Les marqueurs microsatellites sont des marqueurs appropriés pour l'étude de la génétique des populations aux échelles géographiques locale et régionale (Estoup & Angers, 1998). En outre, la majorité des études cherchant à résoudre les relations génétiques entre taxons potentiellement divergents chez les insectes utilisent les marqueurs moléculaires (Estoup *et al.* 1995). Ainsi, ces marqueurs ont un fort potentiel pour ces types d'études parce qu'ils ne posent pas de difficultés de lecture des séquences des géotypes hétérozygotes, et permettent de mieux décrire les limites de caractérisation et d'analyse de ces populations.

I-6-4-1- Marqueurs microsatellites

I-6-4-1-1- Définition

Les marqueurs microsatellites sont des petites séquences d'ADN répétées en tandem, tel que CGCGCGCG (répétition dinucléotidique), CGTCGTCGTCGTCGT (trinucléotide) ou GATAGATAGATAGATA (tétranucléotide) (Tautz, 1993). Ils ont un taux élevé de mutation spontanée, entre 10^{-4} chez l'homme (Weber & Wong, 1993 ; Ellegren, 2004) et 10^{-6} chez la drosophile (Schug *et al.*, 1997). Par conséquent ils constituent une source de polymorphisme génétique importante (Kashi *et al.*, 1997 ; King *et al.*, 1997 ; Fernández-López *et al.*, 2004). Les travaux réalisés avec les microsatellites permettent de reconstruire l'histoire des migrations et l'évolution des espèces, ainsi qu'évaluer la diversité biologique à différents niveaux d'organisation (Edwards *et al.*, 1992 ; Razakandrainibe *et al.*, 2005). Ces marqueurs ont été très utiles pour des études de diversités génétiques, phylogénétiques, ainsi que pour l'évaluation des ressources génétiques et la construction de cartes génétiques. Chez *Simulium damnosum* s.l, leur polymorphisme et la facilité du génotypage font des microsatellites d'excellents marqueurs pour l'analyse de la diversité génétique (Dumas *et al.*, 1998 ; Adjami *et al.*, 2006 ; Linda *et al.*, 2018). Les séquences de microsatellites sont hypervariables, abondantes et codominantes (Dieringer & Schlötterer, 2003). Les différents allèles sont définis par la variation de la longueur due aux différences dans le nombre d'unités répétées (Powell *et al.*, 1996).

L'importante variabilité des marqueurs microsatellites en font des outils largement utilisés pour l'étude de la diversité génétique entre et au sein des populations. La révélation des marqueurs microsatellites se fait à la suite d'une réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

I-6-4-1-2- Principe de la technique de PCR

Le principe de la PCR repose sur l'utilisation d'une ADN polymérase appelée Taq Polymérase, pour une répllication in vitro de séquences spécifiques d'acide nucléique. La PCR consiste donc à amplifier de façon spécifique une séquence d'ADN ou d'ARN dans un échantillon biologique définie par des amorces (séquences encadrant la portion d'ADN ou d'ARN à amplifier). Ainsi, cette séquence d'acide nucléique est produite en grande quantité pour la rendre plus facilement détectable même lorsque l'échantillon d'origine est pauvre en matériel biologique. Un cycle d'amplification se décompose en trois phases. D'abord, la phase de dénaturation, s'effectue à une température d'environ 94 °C. L'énergie thermique dispensée lors de cette étape est suffisante pour rompre les liaisons hydrogène entre les deux brins d'ADN et la double hélice se défait. En suite, vient la phase d'hybridation. Elle s'effectue à une température généralement comprise entre 40 et 70 °C. Le couple d'amorces spécifiques utilisées se fixe sur les séquences complémentaires de l'ADN. Enfin, la PCR s'achève par une étape d'élongation à 72 °C. Lors de cette phase, la Taq polymérase catalyse la répllication des séquences d'ADN monocaténares à partir des amorces et des nucléotides.

I-6-4-2- Applications des marqueurs microsatellites chez *Simulium damnosum* s.l

La première étude utilisant les marqueurs microsatellites fut publiée par Dumas *et al.* (1998). Elle visait à décrire l'utilisation des marqueurs microsatellites pour différencier des populations de *S. damnosum* s.l. Au cours de cette étude, cinq marqueurs microsatellites ont été caractérisés et utilisés pour caractériser des individus de deux populations savaniques du Mali, distant de 120 Km. Quatre de ces marqueurs se sont révélés polymorphe avec 8 - 12 allèles par locus et des diversités génétiques variant de 77,9 à 88,2 % ont été révélées. Un déficit en hétérozygotes significatif a été observé dans les deux populations. Il a été expliqué par la consanguinité, la structuration des populations ou par la présence d'allèles nuls. Aussi, les travaux de Adjami *et al.* (2006), portant sur l'étude spatiotemporelle de la variabilité génétique de *S. damnosum* s.l sur l'axe Sierra Leone - Guinée - Mali, ont été rendu possible grâce aux marqueurs microsatellites caractérisés par Dumas en 1998. Ces résultats montrent également une différenciation génétique entre populations de *S. damnosum* s.l analysées, et révèlent en plus que ces dernières sont issues d'un même pool génique.

1-6-5- Cas des allèles nuls

1-6-5-1-Effets des allèles nuls

Globalement, les allèles nuls conduisent à des estimations biaisées de l'hétérozygotie (Chapuis et Estoup, 2007) et de la diversité génétique (Dabrowski *et al.*, 2015). Par ailleurs, chez les populations clonales où l'indice de différenciation intrapopulation (F_{IS}) est attendu fortement négatif à tous les loci (avec une faible variance entre loci) (De Meeûs *et al.*, 2006), la présence de tels phénomènes peut gonfler la variance entre les loci portant ainsi une confusion sur la présence d'une rare sexualité à l'intérieur d'un système de reproduction principalement clonale (De Meeûs *et al.*, 2006). Ces phénomènes d'allèles mal amplifiés rendent ainsi problématiques les interprétations de certains résultats de terrain, notamment lors d'études récentes sur des espèces de trypanosomes (Kaboré *et al.*, 2013). Vu l'impact de ces phénomènes, ils doivent être pris en compte lors des analyses de données ou de l'interprétation des résultats le cas échéant.

1-6-5-2-Estimation et correction des allèles nuls

Dans le cas des études de génétique des populations, la fréquence des allèles nuls peut être estimée en testant les proportions de Hardy-Weinberg (HW). Les allèles nuls entraînent des déficits en hétérozygotes par rapport aux attendus. Les tests d'estimation de la fréquence des allèles nuls font l'hypothèse que ces déficits sont dus entièrement aux allèles nuls en supposant que les autres causes possibles (effet Wahlund par exemple) ont été contrôlées. Divers estimateurs de la fréquence des allèles nuls faisant usage de ces propriétés ont été développés (Brookfield, 1996) et implémentés dans différents logiciels de génétique des populations spécialisés. Des méthodes de corrections basées sur ces estimateurs sont également disponibles (Chapuis et Estoup, 2007).

I-6-6- *F*-statistiques de Wright

I-6-6-1- Définition

En génétique des populations, tout part de l'équilibre de Hardy-Weinberg. Hardy, mathématicien britannique, et Weinberg, médecin allemand, ont émis indépendamment en 1908 un même modèle mathématique. Ce modèle soutient qu'une population de taille infinie, sans mutation survenant dans le génome des individus de cette population, sans migration, ni sélection (neutralité), avec une reproduction sexuée et une rencontre au hasard des gamètes (panmixie) et sans chevauchement entre générations, atteint un certain équilibre appelé "équilibre de Hardy-Weinberg". A cet équilibre, pour un locus à deux allèles 1 et 2 de

fréquences alléliques p_1 et p_2 , les fréquences génotypiques seront à la génération suivante p_1^2 , $2p_1p_2$ et p_2^2 pour les génotypes 1/1 (homozygote 1), 1/2 (hétérozygote) et 2/2 (homozygote 2) respectivement et ces fréquences resteront stables au cours des générations. Cependant, si les conditions posées (hypothèses) ne sont pas respectées, alors il s'en suit des déviations.

I-6-6-2- Estimation des F -statistiques de Wright

L'estimation des F -statistiques de Wright consistent à décrire l'état génotypique des populations. Trois indices sont mesurés :

- ❖ Le F_{IS} (I pour individus et S pour sous-population) est une mesure de l'identité génétique dans les individus (homozygotie) par rapport à l'identité entre individus de la même sous-population. Il mesure donc la part de l'homozygotie qui provient d'une déviation par rapport au régime de reproduction panmictique idéal dans les sous-populations (rencontre au hasard des gamètes dans chaque sous-population).
- ❖ Le F_{ST} mesure la part d'identité génétique entre individus de chaque sous-population (S) par rapport à l'identité génétique totale (T). Il mesure donc la différenciation génétique entre sous-populations et donne ainsi des renseignements sur les mouvements des individus entre les sous-populations (migration). Cet indice mesure aussi l'effet Wahlund, c'est-à-dire l'excès d'homozygotes qui proviendrait d'une réunion des individus de chaque sous-population en un seul échantillon.
- ❖ Le F_{IT} mesure l'homozygotie des individus, par rapport à l'identité entre individus de la population totale. Cet indice résulte de la combinaison entre la déviation par rapport à la panmixie et l'effet Wahlund.

I-6-7- Déséquilibre de liaison (LD)

I-6-7-1- Définition

Le déséquilibre de liaison, ou déséquilibre de phase gamétique, se définit littéralement comme l'écart à l'association aléatoire entre allèles à des loci différents. En d'autres termes, les fréquences gamétiques des 2 loci considérés ne seront pas égales aux produits des fréquences alléliques correspondantes à ces 2 loci. Plus deux loci sont situés proches l'un de l'autre, moins leurs allèles ont des chances d'être transmis de façon indépendante. Ils sont dits être en DL. Des loci très proches l'un de l'autre seront en plus fort DL que des loci plus éloignés. Ce concept est très utile pour la recherche en génétique. En effet, une association entre un marqueur et une maladie suggère la présence d'un DL entre les deux. Le marqueur à proximité du locus de la maladie, peut faciliter l'identification de ce gène.

I-6-7-2- Mesures de déséquilibre de liaison

La force du déséquilibre de liaison entre deux marqueurs à l'aide du coefficient de déséquilibre de liaison, D peut être mesuré. Soient deux marqueurs, M1 et M2, possédant respectivement les allèles A et a et les allèles B et b. Le coefficient de déséquilibre de liaison entre M1 et M2 correspond à la différence entre la proportion d'haplotypes AB (ou ab) observée et celle espérée sous l'hypothèse d'indépendance. Si les deux marqueurs sont indépendants, la proportion d'haplotypes AB est égale au produit des fréquences d'allèles A et B. C'est-à-dire :

$$D = P(AB) - P(A) P(B) = P(ab) - P(a) P(b).$$

Ainsi, plus D est élevé, plus les marqueurs sont en déséquilibres de liaison. Cette mesure varie au maximum entre -0,25 et 0,25 et est dépendante des fréquences alléliques aux loci considérés.

I-7- STRUCTURE GENETIQUE

I-7-1- Définition

La structure génétique d'une population est une méthode permettant d'identifier des gènes qui contribuent à la variation de caractères. Mais, peuvent permettre aussi d'estimer leur degré d'introgession / hybridation, d'inférer l'origine d'un locus en particulier. L'établissement de la structure génétique d'une population consiste aussi, à déterminer le nombre de groupes génétiques différents au sein de cette population, les individus composant chacun de ces groupes, et éventuellement les individus ayant des origines dans plusieurs groupes. La plupart des espèces sont structurées, c'est-à-dire que l'ensemble de leurs individus ne forme pas une unité génétiquement homogène. Une espèce peut être constituée de plusieurs groupes, totalement ou partiellement isolés, pour diverses raisons : éloignement géographique, présence de barrières environnementales, reproduction préférentielle... . Cet isolement, associé au phénomène aléatoire de dérive génétique et parfois à des phénomènes d'adaptation locale, amène les groupes à se différencier génétiquement.

I-7-2- Approches expérimentales de la structure génétique des populations

I-7-2-1- Méthode directe

Elle consiste à l'observation directe sur le terrain des flux migratoires et de la dispersion des individus et elle fait notamment appel aux techniques de capture-marquage-recapture. Cette méthode a été appliquée à l'étude de la dispersion des moustiques, particulièrement chez *Ae. aegypti* mais aucun exemple n'a été recensé chez *S. damnosum* s.l. Les moustiques sont marqués par des poudres fluorescentes. Des modèles spécifiques permettent d'estimer la

capacité de dispersion des individus, leur espérance de vie (taux de mortalité journalier), la densité de la population et d'en déduire une estimation de la taille effective des populations (Service, 1997). Elle apporte donc des informations sur la capacité vectorielle des populations, leur biologie et leur importance épidémiologique. Cependant, la méthode directe souffre de différents biais pour l'estimation des flux de gènes (Slatkin, 1995). En effet, la capacité de dispersion peut ne pas refléter les flux de gènes parce qu'elle n'est pas représentative du succès d'établissement et de reproduction des individus ayant migrés.

I-7-2-2- Méthode indirecte

Cette méthode s'appuie sur l'observation de la répartition géographique des fréquences alléliques, obtenues en utilisant les techniques de biologie moléculaire en général et de la PCR en particulier. Des marqueurs permettent d'avoir un accès direct au polymorphisme de l'ADN (Nei, 1987 ; Avise, 1994 ; Raymond, 1996). Cette méthode diffère foncièrement de la précédente dans le sens où elle se place en amont des flux de gènes. Le but étant alors d'estimer le taux des flux géniques qui ont dû se produire pour expliquer le profil de répartition de la variabilité génétique observée. Cela justifie l'appellation "indirecte".

I-7-3- Détection de la structure génétique

I-7-3-1- Arbre phylogénétique

Les méthodes historiques pour étudier la proximité génétique d'individus sont basées sur la construction d'arbres phylogénétiques. Dans les années 60, les premiers travaux sur la structure des populations, essentiellement publiés par Cavalli-Sforza et Edwards, reposent sur la reconstruction des phylogénies à partir de fréquences alléliques. La méthode est décrite dans Cavalli-Sforza & Edwards (1967). Actuellement, l'algorithme fréquemment appliqué pour la construction d'arbres phylogénétiques est l'algorithme de *neighbor-joining*, proposé par Saitou & Nei (1987), implémenté dans divers logiciels (Felsenstein 1989 ; Kumar *et al.* 2004). La construction de l'arbre est faite à partir d'une matrice contenant les distances génétiques pour chaque paire d'individus. Ces distances génétiques sont classiquement calculées à l'aide des distances proposées par Nei *et al.* (1983) ou par Reynolds *et al.* (1983). Une fois l'arbre construit, on peut décider de le « couper » à un certain niveau pour définir les différents groupes génétiques (Nei *et al.*, 1983). On peut aussi l'utiliser comme outil descriptif, en particulier pour vérifier si les groupes génétiques correspondent à des groupes prédéfinis.

I-7-3-2- Analyse en composantes principales

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode classique d'analyse de données multidimensionnelles. Elle permet de projeter des données sur un nombre réduit d'axes orthogonaux, tout en maximisant la variance des données projetées sur chacun des axes. Son application à des données génétiques remonte à l'étude de la distribution géographique des fréquences alléliques de 10 loci chez des individus européens (Menozzi *et al.*, 1978). L'utilisation de l'ACP en génétique des populations est redevenue populaire grâce à un article de Patterson *et al.* (2006) et à leur logiciel EIGENSTRAT. Les auteurs y proposent un test formel de la présence ou non de structure de populations. Ils démontrent que l'ACP peut détecter cette structure à partir d'un niveau minimum de différenciation génétique qui dépend du nombre de marqueurs et de la taille de l'échantillon. De plus, ils établissent un lien entre le nombre de clusters détectables par l'algorithme STRUCTURE et le nombre d'axes significatifs de l'ACP.

I-7-3-3- Méthodes avec modèle explicite

Une autre approche consiste à supposer que les données génétiques peuvent être expliquées par un modèle probabiliste dont les paramètres sont inconnus. Une des premières méthodes basées sur un modèle explicite permettant de détecter la structure génétique des populations a été proposée par Pritchard *et al.* (2000). Elle est implémentée dans la première version du logiciel STRUCTURE. Il s'agit d'un modèle hiérarchique bayésien qui constitue la base de nombreuses méthodes actuelles. Le modèle de STRUCTURE suppose l'existence de K populations (non prédéfinies), et chacune d'entre elles est caractérisée à chaque locus par un ensemble de fréquences alléliques. L'objectif de STRUCTURE est d'estimer conjointement les fréquences alléliques au sein des différentes populations et les coefficients d'appartenance ou de métissage des individus (Jay *et al.*, 2011). Pour cela l'algorithme estime la distribution jointe de ces variables (et des variables cachées) à l'aide d'une méthode de Monte Carlo par chaîne de Markov (*Markov chain Monte Carlo*, MCMC). STRUCTURE cherche donc à créer des populations afin de minimiser l'écart à l'équilibre de Hardy-Weinberg au sein de chacune d'elles.

I-7-4- Structure génétique et environnement

I-7-4-1- Test de Mantel

Le test de Mantel est la méthode la plus couramment utilisée pour étudier les relations entre variables environnementales et structure génétique. Il permet de calculer la corrélation entre

deux matrices et d'évaluer si cette corrélation est significative en la comparant à la distribution de valeurs obtenues à la suite de permutations au sein des matrices (Mantel, 1967). Cette méthode a été utilisée pour tester la corrélation entre une matrice contenant les distances génétiques pour chaque paire d'individus et une matrice contenant les distances géographiques entre ces mêmes individus (Ramachandran *et al.*, 2005). Aussi, le test de Mantel permet d'évaluer l'effet d'une variable sur une autre, tout en contrôlant l'effet d'une troisième (Smouse *et al.*, 1986). Depuis, il a souvent été appliqué en génétique des populations, notamment à des données de populations humaines pour tester la corrélation entre distances génétiques et distances linguistiques, en tenant compte des distances géographiques (Belle & Barbujani, 2017 ; Wang *et al.*, 2017).

I-7-4-2- GESTE (*Genetic Structure inference based on genetic and Environmental data*)

Foll & Gaggiotti (2006) ont développé une méthode bayésienne pour étudier l'effet de variables environnementales sur la différenciation génétique. Pour cela les auteurs ont intégré des données environnementales dans un modèle hiérarchique bayésien estimant les coefficients de différenciation génétique, F_{ST} , au sein de populations prédéterminées dans un modèle de structure en *continent-îles*. Le modèle permet d'estimer conjointement l'influence de différentes variables environnementales et les coefficients F_{ST} de chaque population. Cet algorithme est implémenté dans le logiciel GESTE. Contrairement au test de Mantel, GESTE ne nécessite pas le calcul de distances génétiques ou environnementales. Il nécessite en revanche de connaître à l'avance les populations pour lesquelles seront estimés les coefficients F_{ST} .

II - MATERIEL ET METHODES

II-1- Zone d'étude

Située sur la Côte Ouest du continent africain, entre l'Equateur et le Tropique du Cancer (4° 15' et 10° 43' de latitude Nord et 2° 30' et 8° 32' de longitude Ouest), la République de Côte d'Ivoire est limitée à l'Ouest par le Liberia et la Guinée, au Nord par le Mali et le Burkina Faso, à l'Est par le Ghana et au Sud par l'Océan Atlantique (figure 23). Elle a une superficie de 322 462 Km². La Côte d'Ivoire se divise en deux zones climatiques (AIP, 2015). Au Sud, le climat côtier subéquatorial est marqué par des températures toujours supérieures à 18 °C, une forte humidité et une amplitude thermique pratiquement nulle. Les précipitations (2 500 mm en moyenne) sont réparties entre deux saisons de pluies (Avril-Août et Septembre-Novembre). Les températures toujours élevées oscillent entre 21 °C et 33 °C (AIP, 2015). Vers le Centre du pays, les pluies sont moins abondantes (de 1 000 à 2 500 mm) et l'écart des températures moyennes (entre 14 °C et 39 °C) est plus net. Au Nord, le climat est de type tropical soudanien, avec une saison faiblement humide et une saison sèche (Novembre-Mai) placée sous l'influence de l'harmattan (vent sec et chaud du Sahara). L'amplitude thermique y est marquée, les températures variant de 10 °C à 42 °C. La Côte d'Ivoire comprend trois grandes zones agro-écologiques : une forêt dense humide (ou zone guinéenne) au Sud, une savane humide (ou zone soudanienne) au Nord, et une zone de transition forêt-savane humide (ou zone soudano-guinéenne) au Centre (AIP, 2015).

Cette étude s'est déroulée dans trois départements de la Côte d'Ivoire (Figures 24, 25 et 26) :

- ✚ le département de Soubré situé au Sud - Ouest du pays, dans la zone de la forêt dense humide,
- ✚ le département de Bouaflé situé au Centre - Ouest du pays, dans la zone de transition forêt-savane humide,
- ✚ le département de Touba situé au Nord - Ouest du pays, dans la zone de la savane humide.

II-2- Critères de choix des zones d'étude

Les critères de choix des zones d'étude sont nombreux. En effet, les départements choisis bénéficient d'importants cours d'eau dont le fleuve Sassandra à Soubré, la Marahoué à Bouaflé et un affluent du fleuve Sassandra, le Bagbé, à Touba.

En outre, ces départements font partie des localités de la Côte d'Ivoire où l'on rencontre la majorité des maladies vectorielles telles que l'onchocercose (Yapi *et al.*, 2014) et la trypanosomiase humaine africaine (Jamonneau *et al.*, 2004). Par ailleurs, l'arrêt du traitement larvicide depuis 2002 dans ces différentes localités a été un critère fondamental dans le choix de ces zones. Aussi, l'existence d'une forte nuisance simuliidienne avec une possibilité de

réémergence de la maladie dans ces localités à guidé leur choix. En outre, depuis Septembre 2002, ces localités sont occupées par une importante population d'immigrés provenant des pays d'Afrique Subsaharienne où l'onchocercose est endémique. Ces immigrants seraient probablement parasités par *Onchocerca volvulus* (OMS, 2011).

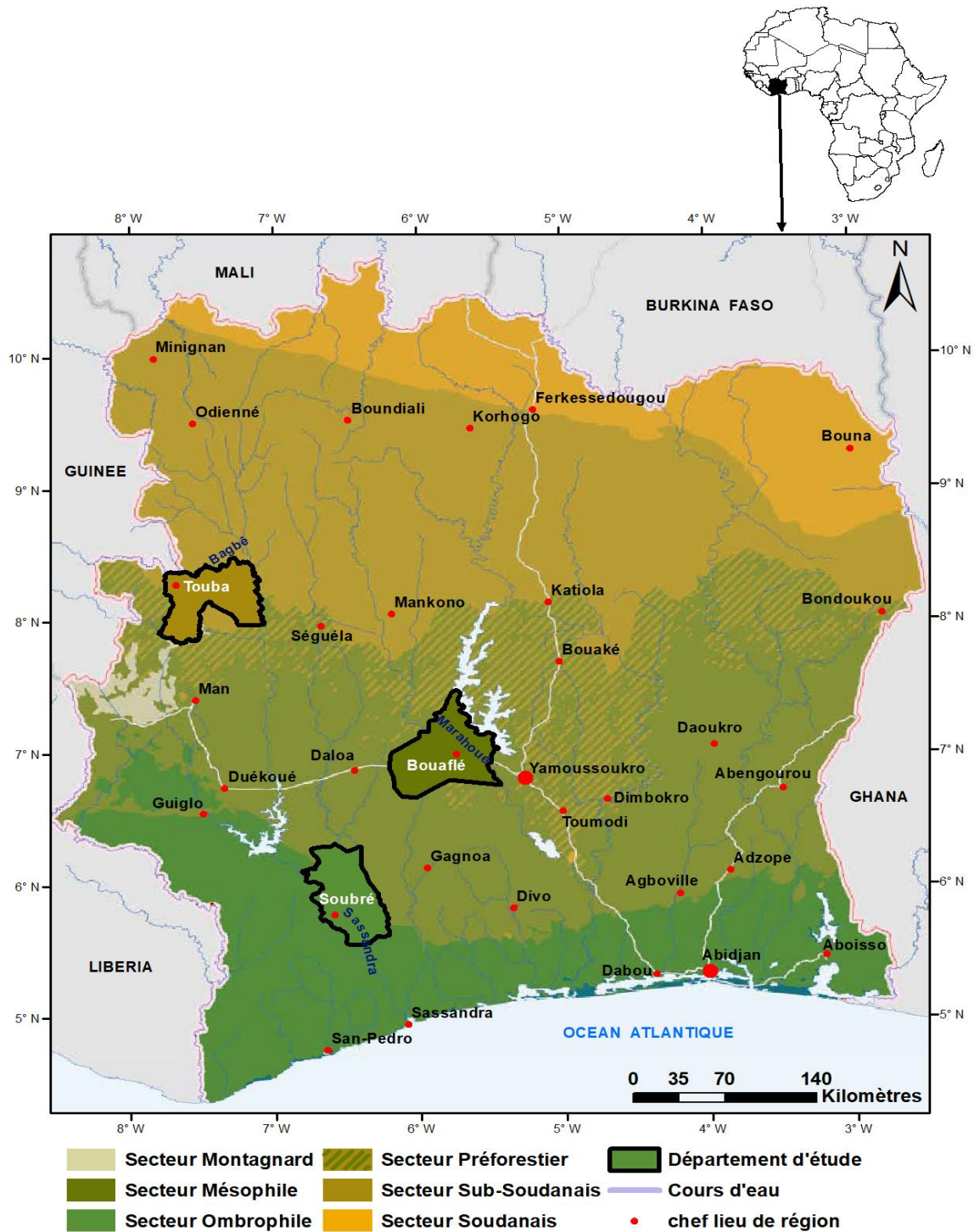


Figure 23 : Zones de l'étude, Côte d'Ivoire

II-2-1- Département de Soubré

Le département de Soubré est situé à 05° 47' 12,6 '' et 05° 47' 08'' de LN et à 06° 36' 0'' et 06° 36' 30'' de LW (Figure 24). Avec une superficie de 8 779 km² et une population estimée à 175 163 habitants. Le département de Soubré fait partie de la grande région des forêts. Ainsi, limité au Nord par les départements de Buyo et d'Issia, à l'Est par ceux de Gagnoa et de Gueyo et au Sud par les départements de Méagui et de Sassandra, le département de Soubré est situé à 400 Km d'Abidjan, capitale économique du pays. Localisé à 1 km de la commune de Soubré sur l'axe Soubré - San Pedro, le site de la chute Nawa a été le lieu de capture des simules dans ce département.

Le département de Soubré est marqué par une forêt dense et humide qui fait place aujourd'hui à des lambeaux de forêts et d'immenses plantations de cultures pérennes comme le café, le cacao, le palmier à huile et l'hévéa (AIP, 2015). L'essor de ces cultures pérennes a engendré un afflux massif d'ivoiriens des autres régions et de non ivoiriens (Anonyme, 2015). Le climat de ce département est de type subéquatorial, avec deux saisons pluvieuses d'avril - juin et Septembre - Novembre, et deux saisons sèches, de Juillet - Août et de Décembre - Mars (Ohou-Yao *et al.*, 2017). Dans cette zone, la température moyenne est de 24,6 °C. Sur toute l'année, la température minimum de 23,3 °C se signale en Janvier et la température maximum de 26,3 °C en Mars, soit une amplitude thermique annuelle de 3 °C. La précipitation dans cette zone connaît une forte pluviométrie dont la moyenne annuelle est 1800 mm (AIP, 2015).

Le département de Soubré a un réseau hydrographique constitué de cours d'eaux permanents. Ce réseau hydrographique est l'un des plus denses de la Côte d'Ivoire, avec la présence du fleuve Sassandra et d'un barrage hydroélectrique. Le courant de ce fleuve est marqué par de nombreux rapides qui le rendent impraticable à la navigation fluviale. C'est le cas des chutes de Nawa, non loin de la ville de Soubré. Cependant, ces rapides sont favorables à la naissance d'innombrables petits gîtes pré-imaginaires fonctionnels. Leur productivité annuelle est typiquement synchrone et permanente (Quilievéré, 1979).

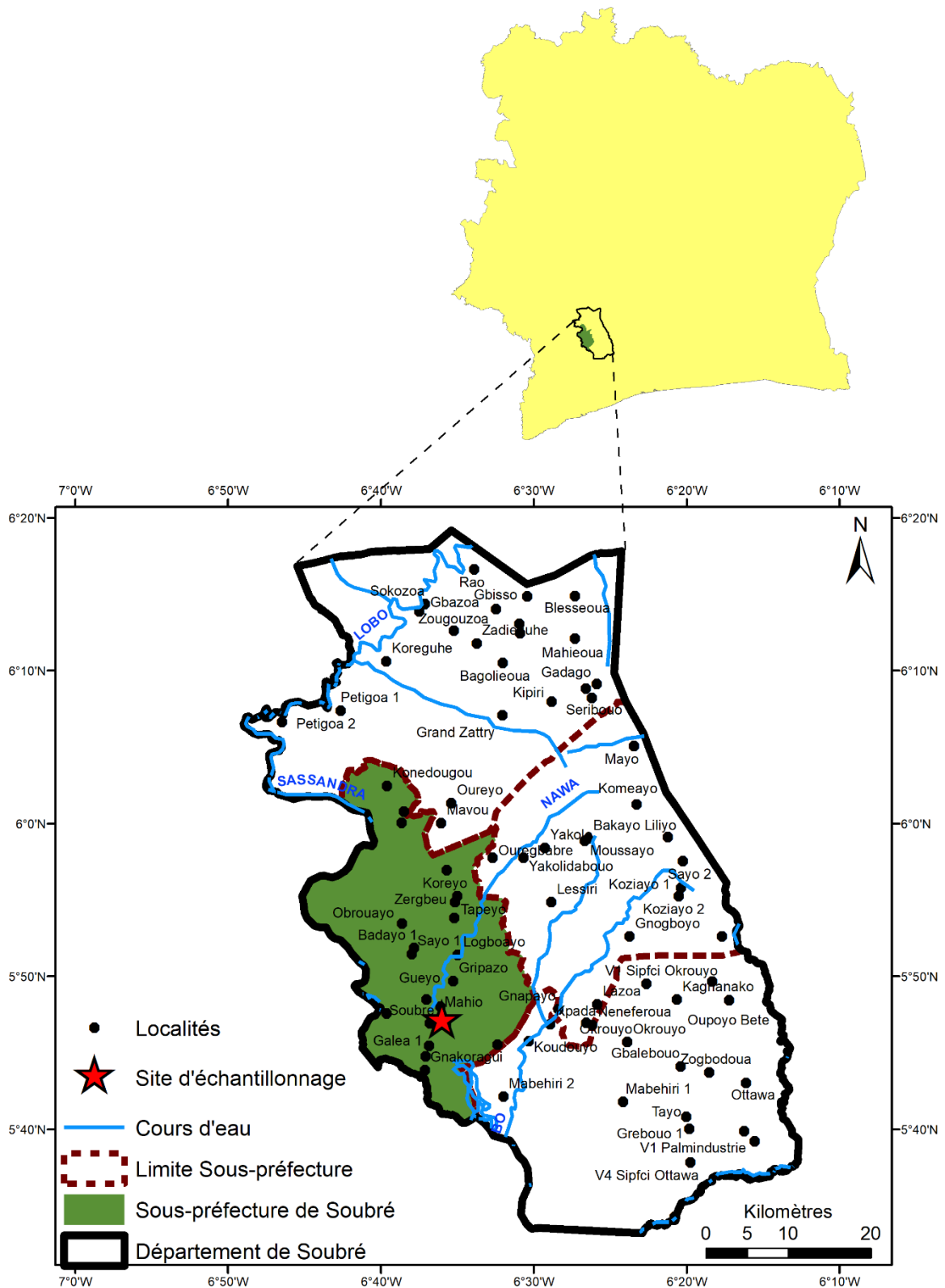


Figure 24 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Soubre, Côte d'Ivoire.

II-2-2- Département de Bouaflé

Le département de Bouaflé (Figure 25) est situé à 06° 58' 50,2'' et 06° 50' 30,2'' de LN et à 05° 45' 17,9'' et 05° 40' 12,7'' de LW. Avec une superficie de 4214,5 km² et une population estimée à 236 312 habitants (INS, 2014). Le département de Bouaflé est limité au Sud par le département de Yamoussoukro, à l'Est par celui de Zuenoula, à l'Ouest par le département de Sinfra et au Nord par le département de Daloa. Le site du pont de Bouaflé a été le lieu de capture des simulies dans ce département. Ce site se situe à 1 km de la ville de Bouaflé, sur l'axe Bouaflé - Daloa.

Situé à 310 km d'Abidjan, le département de Bouaflé est partagé entre la forêt dense au Sud et à l'Ouest, la savane arborée au Nord et à l'Est. L'agriculture extensive et itinérante, ajoutée à l'exploitation forestière, ont modifié profondément la flore, laissant ainsi place à de grandes étendues de jachères et de plantations de cultures pérennes (Kouamé, 2008). Cette pression anthropique fait de Bouaflé une région essentiellement agricole avec une production de 46 803 tonnes de cacao en 2014, 912 tonnes de café, 1090,7 tonnes de coton et 10212,79 tonnes de produits vivriers (AIP, 2015).

Le département de Bouaflé appartient au secteur pré-forestier qui comporte quatre saisons, dont deux saisons de pluies allant du mois de Mars à celui de Juin et du mois de Septembre à Octobre. Celles-ci sont entrecoupées par deux saisons dites sèches qui partent de Novembre à Février et de Juillet à Août. La pluviométrie moyenne est de 1421 mm de pluies par an, avec une température moyenne autour de 25 °C (AIP, 2015).

Le réseau hydrographique du département de Bouaflé se compose essentiellement du fleuve Marahoué ou Bandama rouge qui se divise en plusieurs affluents, délimités par des affleurements du socle rocheux. Leurs nombres et positions varient selon les saisons (Bellec & Hébrard, 1977 ; Kouamé, 2008). Le Bandama comporte de très importants gîtes à *Simulium damnosum*. Ces gîtes se forment en saison sèche au niveau des ruptures de pentes.

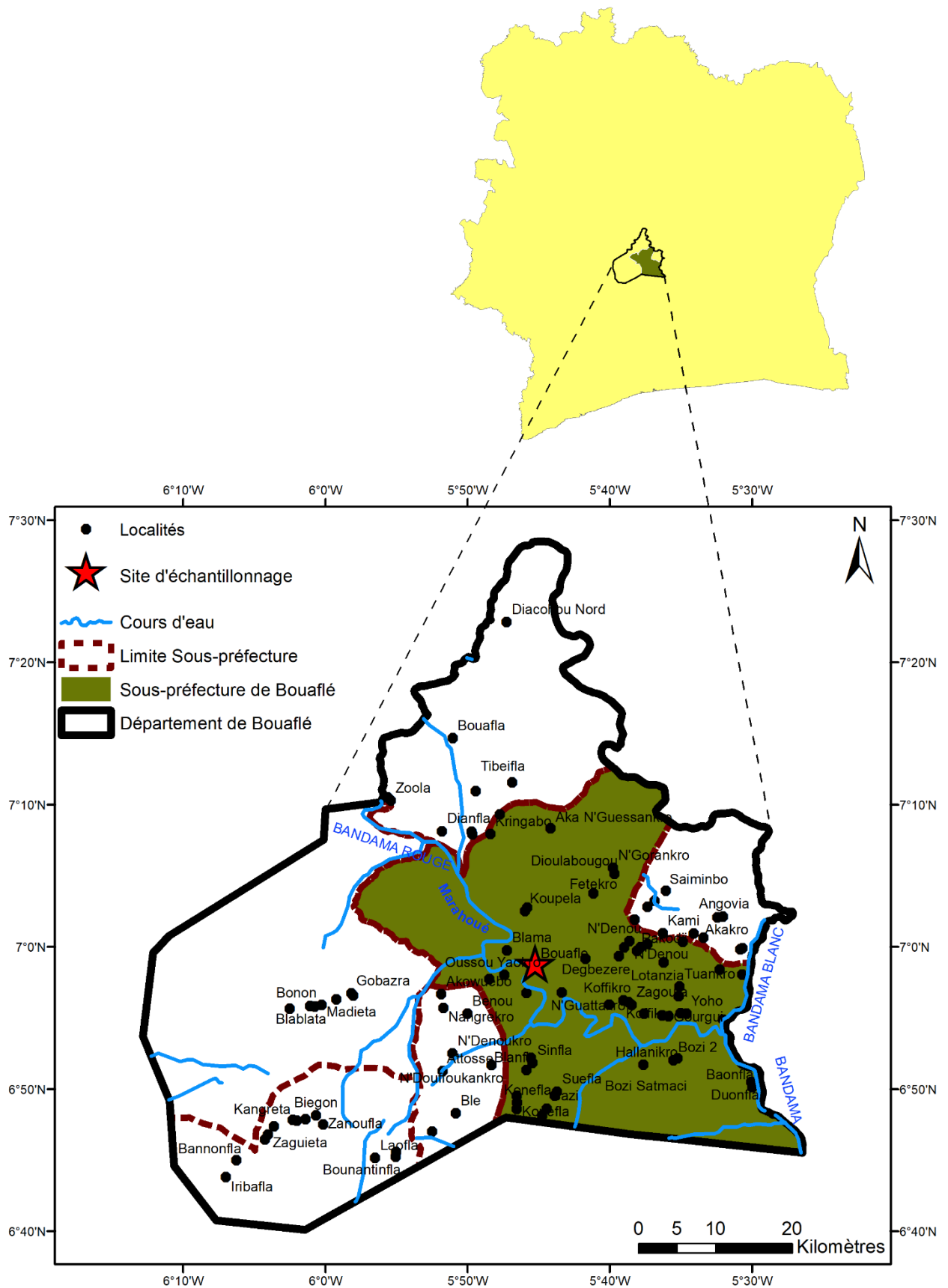


Figure 25 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Bouaflé, Côte d'Ivoire.

II-2-3- Département de Touba

Chef-lieu de la région du Bafin, le département de Touba est situé à 08° 23' 04,4'' et 08° 15' 18,4'' de LN nord et à 07° 37' 49,2'' et 07° 22' 34,2'' de LW (Figure 26), avec une superficie de 3380 km² et une population estimée à 31 844 habitants (INS, 2014). Le département de Touba fait partie de la grande région des savanes, frontalier de la Guinée Conakry. Limité au Nord par le département d'Odienné, au Sud par le département de Biankouma, à l'Est par le département de Séguéla, le département de Touba est situé à 710 km d'Abidjan. Sa population est essentiellement le peuple Malinké (Mahou). Situé à 12 km de la commune de Touba sur l'axe Touba - Odienné, la rive du fleuve Bagbé a été le point de capture des simulies dans ce département (INS, 2014).

Le département de Touba est recouvert d'une savane arborée avec quelques forêts par endroit. C'est une zone fortement agro-pastorale. La culture vivrière récurrente est le maïs. A cette culture s'ajoute le manioc et l'igname. L'élevage des bovins et la pêche se pratiquent dans ce département. Le climat est de type soudano - guinéen, avec, en Décembre et en Janvier, l'harmattan, un vent sec et poussiéreux venu du sahara qui abaisse considérablement la température. La grande saison sèche (Novembre-Mars) précède la saison des pluies marquée par deux pluviométries maximales, l'une en avril et l'autre en octobre. La pluviométrie annuelle oscille entre 1600 et 2000 mm avec une température moyenne annuelle de 30 °C (AIP, 2015).

Le département de Touba est drainé par trois fleuves et quelques petits cours d'eau (Kouamé, 2005). Ces fleuves sont des affluents du Sassandra. On dénombre des ruisseaux et marais, qui forment avec le fleuve Sassandra et ses trois affluents (le Bagbé, le Bafing et le Boa) au niveau des rapides, des gîtes pré-imaginaux de simulies (Bellec & Hébrard, 1977).

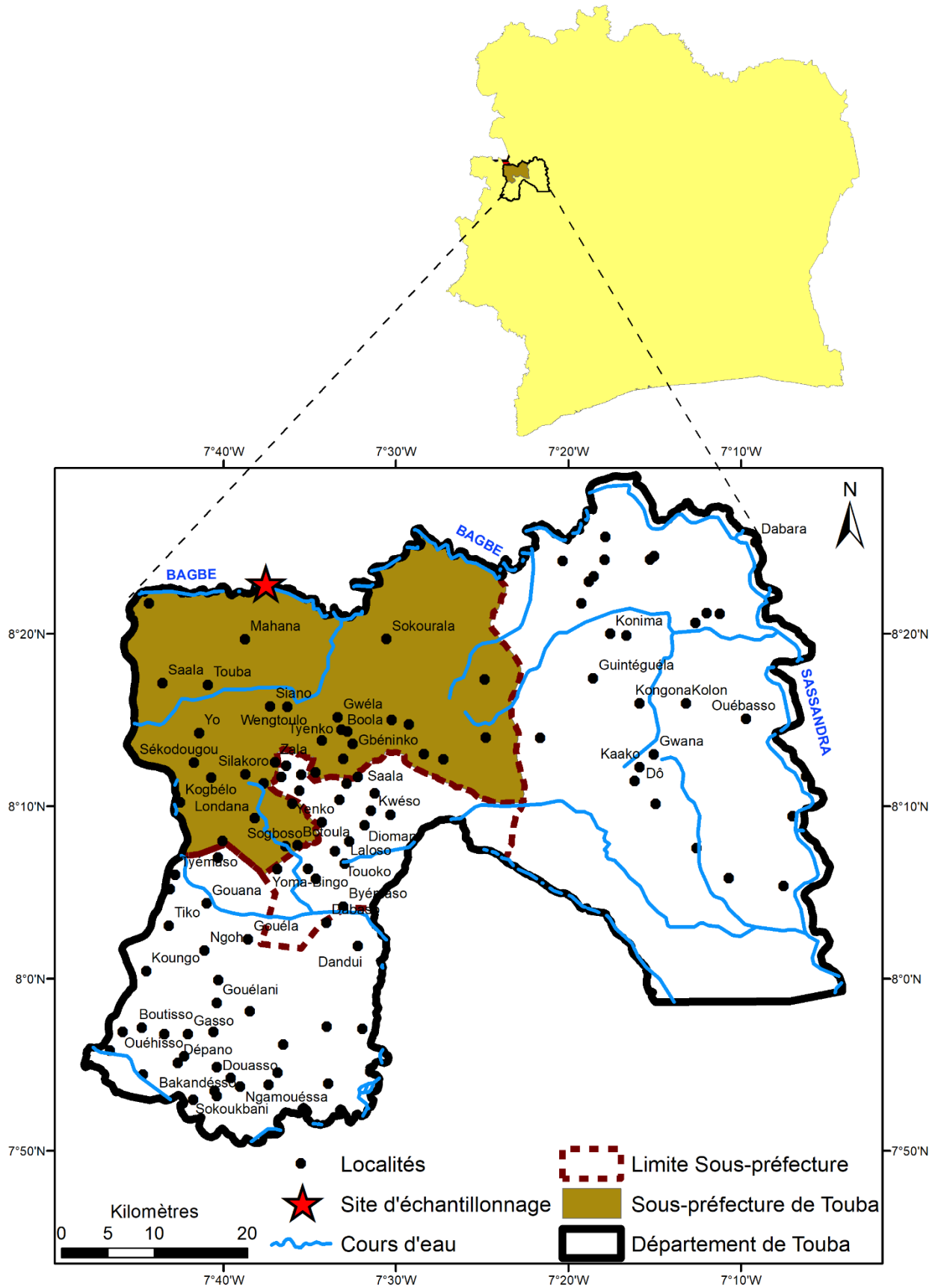


Figure 26 : Localisation du site d'échantillonnage du département de Touba, Côte d'Ivoire

II-3- Matériel Biologique

Le matériel biologique est constitué d'échantillons de différentes espèces de simulies. Elles ont été récoltées dans trois localités de la Côte d'Ivoire : Soubré, Bouaflé et Touba.

II-4-Méthodes

II-4-1- Choix des points de capture

Les choix des points de capture ont été faits en tenant compte du protocole des études de base relatives à l'impact à long terme des opérations du Programme Africain de lutte Contre l'Onchocercose (APOC). Ce protocole prévoit que le point de capture soit un lieu ombragé et abrité du vent, mais libre de végétation et accessible en toutes saisons de manière à pouvoir être suivi pendant toute l'année. Il est représentatif des lieux fréquentés par la population locale sans pour autant que les « captureurs » soient entourés de rassemblements humains, cela pour éviter la baisse d'attention des « captureurs » (OMS, 2002). Dans le cadre de cette étude les captures ont été réalisées au niveau de la zone des rapides à proximité d'un gîte productif.

II-4-2- Choix des captureurs et condition de travail

La réalisation de la capture des simulies a nécessité des captureurs. Ces derniers ont été chargés de collecter les simulies au niveau des points de capture. Ils ont été choisis en fonction de l'âge (plus de 20 ans) et formés à la capture des simulies sur homme. Il a été nécessaire que les captureurs, au nombre de deux (2), respectent les horaires, du lieu de capture choisi, les conditions d'exposition, attention soutenue et une habileté manuelle à la capture des simulies avant qu'elles ne commencent à piquer.

II-4-3- Méthodes d'échantillonnage

II-4-3-1- Capture des simulies

La technique classique de capture de simulies sur homme à l'aide de tube à hémolyse en matière plastique a été utilisée (Le Berre, 1966 ; Philippon, 1977, Simaro *et al.*, 2019). Au cours des différentes prospections, une équipe composée de deux personnes a assuré la capture des simulies. Chacun travaille à tour de rôle pendant une heure. Le captureur assis, a pour mission de récolter dans des tubes à hémolyse toutes les femelles de simulie voulant se gorger sur lui. Compte-tenu de la localisation basse des piqûres des femelles de *Simulium damnosum* s.l, seules ses jambes ont été dénudées et exposées. Du fait que la plupart des simulies capturées sont destinées à une étude de leur infection par *Onchocerca volvulus*, il est absolument indispensable que l'opérateur capture les femelles avant qu'elles n'entament leur processus de piqûre. Les simulies ont été prélevées directement à l'aide d'un tube de capture, à raison d'une seule femelle

par tube (Figure 27). Chaque « captureur » est donc muni d'une importante réserve de tubes de capture. A la fin de la journée, le nombre des simulies capturées a été quantifié. La collecte d'un effectif minimum de 800 femelles par site est requise.

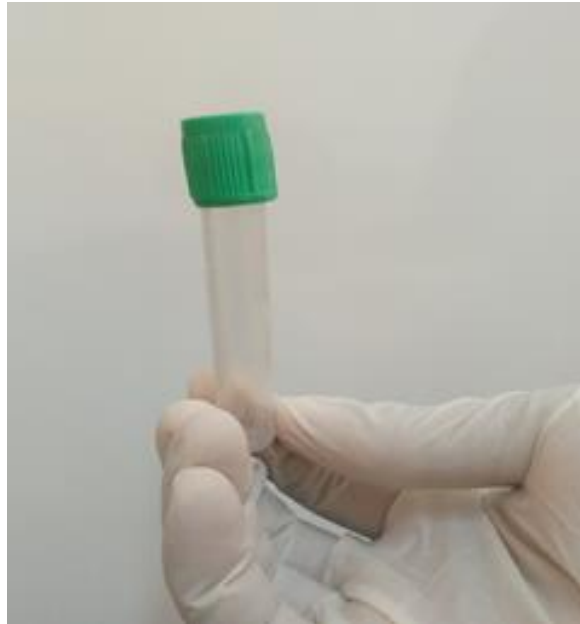


Figure 27 : Tube de capture de simulies

II-4-3-2- Rythme des captures

Les captures ont couvert toute la période d'activité journalière des femelles et s'étalent sur un cycle annuel. Elles ont été réalisées de 7 heures à 18 heures sans interruption grâce à la rotation des « captureurs », de manière à éliminer autant que possible les variations journalières dues aux intempéries (OMS, 2009). Un point de capture a été sélectionné par site d'échantillonnage. Pour l'étude du facteur saison, les captures de la saison sèche ont été réalisées dans le mois de Décembre 2016. Puis, celles de la saison intermédiaire ont été réalisées durant les mois de Mars et Octobre 2017. Quant à la capture de la saison des pluies, elles ont été effectuées pendant le mois de Juillet 2017. A chaque saison, les captures ont eu lieu pendant trois jours consécutifs au même endroit sans être répétées.

II-4-3-3- Conservation et transport des simulies capturées

Les femelles de *Simulium damnosum* s.l destinées à des examens moléculaires ultérieurs ont été conservées dans l'alcool à 70 °C. Celles destinées aux études entomologiques, ont été

conservées vivantes pour la dissection. Aussitôt après la capture, les tubes renfermant les simulies ont été placés à l'abri de la chaleur entre deux couches de coton humides. A la fin de chaque heure, le «captureur» confectionne un paquet de tubes portant une étiquette indiquant le lieu, la date et l'heure de capture puis ce paquet est conservé au frais. Les simulies ont été transportées dans une glacière contenant de la glace alimentaire. La dissection des simulies n'excédant toutefois pas une nuit, elles ont été transportées au laboratoire qu'à la fin de la journée compte tenu de l'éloignement du lieu de capture.

II-4-3-4- Identification morphologique des femelles de *Simulium damnosum* s.l

L'identification des simulies capturées a été établie en se basant sur les critères micro-morphologiques habituellement utilisés par le Programme OCP, pour distinguer les différentes espèces du complexe *S. damnosum* s.l (Quillevere *et al.*, 1977). En effet, elle a consisté à observer et à identifier les différentes parties de la mouche noire, à savoir, la couleur de l'antenne, la couleur des soies de la touffe alaire et de l'arcus, la couleur des soies du scutellum, la couleur du premier article de la patte antérieure ou procoxa et la couleur des soies du 9^{ème} tergite abdominal à l'aide d'une loupe binoculaire (Figure 28).

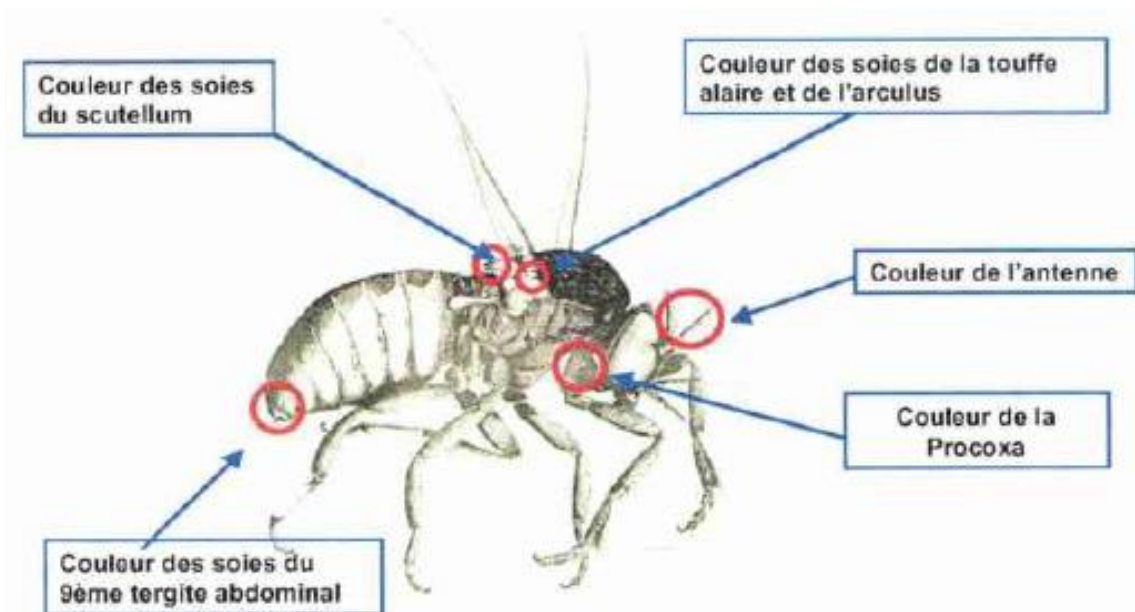


Figure 28 : Identification morphologique des femelles de *S. damnosum* s.l (Quillevere *et al.*, 1977)

II-4-3-5- Critères de classification des simulies de savanes et de forêts

Les critères de classification des femelles *Simulium damnosum* s.l ont été les suivants (Tableau II). Les parties observées ont été le procoxa, les antennes, la touffe alaire, l'arculus, les sois du scutellum et les sois du 9^e tergite abdominal.

Tableau II : Critères d'identification des simulies de savane et de forêt (OMS, 2002)

	Procoxa	Antennes	Touffe alaire	Arculus	Soies du Scutellum	Soies du 9 ^e tergite abdominal
Code 06 Simulie de savane (<i>S.damnoss</i> ; <i>S. sirbanum</i>)	Plus claire que le thorax	Pâles	Pâles	Pâles	Pâles	Pâles
Code 07 Simulie de forêt (<i>S. squamosum</i> ; <i>S. sanctipauli</i> ; <i>S. soubrese</i>)	Aussi foncé que le thorax	Sombres Mais article 1 à 9 pâles	Sombres Mais parfois pâles	Brun	Mixtes ou pâles	Mixtes ou pâles
Code 08 Simulie de forêt (<i>S. yahense</i>)	Aussi foncé que le thorax	Sombres avec le 1 ^{er} article pâle	Sombres	Sombres	Foncées	Foncées

II-4-3-6- Technique de dissection de femelles de *Simulium damnosum* capturées

Toutes les dissections de femelles de *S. damnosum* s.l ont été effectuées à l'aide d'aiguille sur du matériel frais de simulies montées sous une loupe binoculaire. Les femelles ont été disséquées immédiatement après avoir été tuées au chloroforme, sur une lame portant une solution de chlorure de sodium à 4,5 %. La technique de dissection est celle de Lewis (1957). Elle consiste à séparer les différentes parties du corps de la simulie (tête, thorax et abdomen), à les isoler puis à dilacérer finement ces organes. Pratiquement, l'abdomen a été incisé dans sa partie postérieure, puis les différents organes sont tirés vers l'arrière (Figure 29 a, b). Cela permet l'observation de tous les caractères pour la détermination de l'âge

physiologique (sang frais ou résiduel, aspect des tubes de Malpighi, présence ou absence de reliques folliculaires de ponte et d'œufs résiduels dans les ovaires).

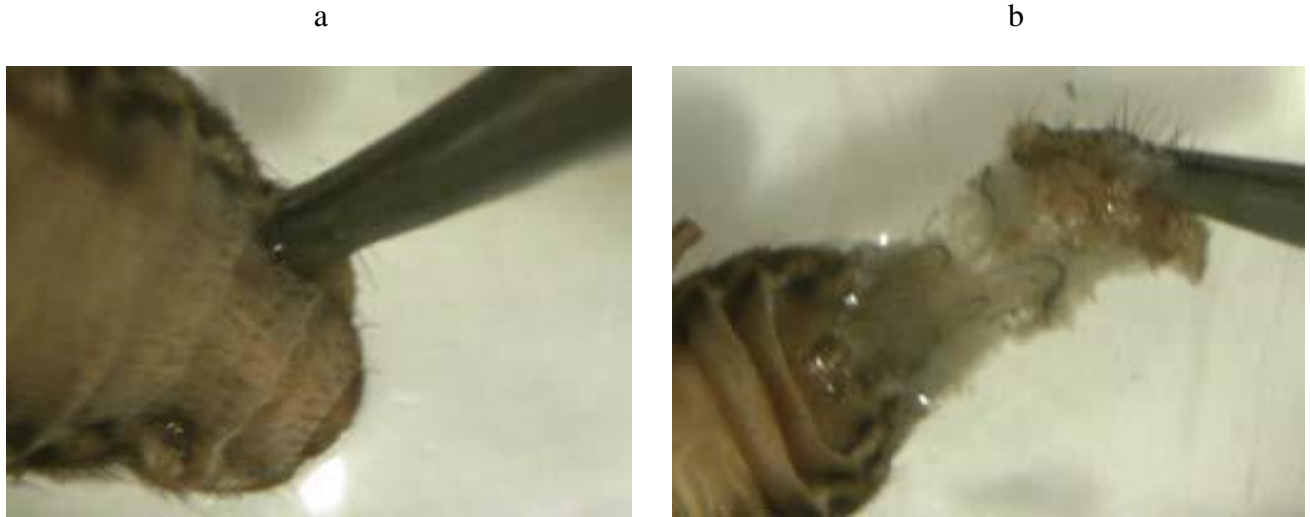


Figure 29 : Dissection de l'appareil génital femelle (URGEM, 2017)

a : Incision de l'abdomen

b : Extraction de l'appareil génital

II-4-3-7- Détermination de l'âge physiologique des femelles de *Simulium damnosum* s.l disséquées

Comme l'a souligné LE Berre (1966), seule la présence de reliques folliculaires constitue un caractère absolu pour distinguer les femelles nullipares c'est-à-dire celles n'ayant jamais pondu et les femelles ayant effectué un ou plusieurs cycles gonotrophiques qui sont les femelles pares. Dans la pratique courante, le caractère aspect des ovaires a été utilisé (Ovazza *et al.*, 1965 ; Duke, 1968c ; Simaro *et al.*, 2019). Les femelles ayant des ovaires généralement clairs, avec des follicules plus gros, plus volumineux, plus sphériques et gonflés, sont nullipares. Les ovaires nullipares ne s'étirent que très peu avant de se rompre brusquement, contrairement aux ovaires pares qui s'étirent jusqu'à trois fois sa longueur et se déchirent lentement. L'ovaire pare est jaunâtre, d'apparence tachetée à cause des reliques folliculaires. Les follicules sont un peu plus petits et plus ovales que ceux des nullipares. Les autres caractères ont été utilisés accessoirement, en particulier celui des tubes de Malpighi, dont l'aspect (claire à la lumière transmise) ne semble vraiment une caractéristique que chez les femelles manifestement très âgées.

II-4-3-8- Détermination de l'infection des simulies par *Onchocerca volvulus*

La tête, le thorax et l'abdomen des femelles pares ont été séparés et imbibé dans une solution de chlorure de sodium à 4,5 % puis leur dilacération. Minutieusement, elles ont été examinées pour la recherche des larves d'*Onchocerca volvulus* dont le nombre et les stades évolutifs permettent d'établir les taux d'infestation et les charges parasitaires des femelles du complexe *Simulium damnosum*.

II-4-4- Enregistrement des résultats de la capture et de la dissection

Une fiche de résultats de captures élaborée a permis de noter le nombre de simulies capturées chaque heure au cours d'une journée (Annexe 1). Cette fiche a servi également à noter les températures enregistrées à chaque demi-heure et d'autres observations comme la pluie, le vent etc. Les résultats de la dissection pour chaque point et chaque journée ont été notés sur une autre fiche dérivée de celle de LE Berre (1966) (Annexe 2). Sur cette fiche sont indiqués l'âge physiologique (pare ou nullipare), l'aspect des tubes de Malpighi, la présence ou l'absence de sang frais et la présence éventuelle d'œufs résiduels des femelles disséquées.

II-5- Détermination de la diversité génétique des populations de *Simulium damnosum* s.l.

II-5-1- Extraction de l'ADN génomique des simulies

L'extraction de l'ADN génomique des simulies a été réalisée à partir du corps entier de la similie femelle adulte, selon le protocole de la salinité basé sur le tampon NaCl et adapté par l'Unité de Recherche en Génétique et Epidémiologie Moléculaire de l'Université Jean Lorougnon Guédé, URGEM (Annexe 3). Brièvement, les simulies ont été broyées manuellement à l'aide d'une tige plastique dans un tube eppendorf de 1,5 mL, contenant 200 µL de tampon de lyse de globule rouge (SLR). Le tampon SLR est composé de 10 mM de Tris-HCl, 400 mM de NaCl et de 2 mM de EDTA. Le broyat a été incubé pendant 1 heure à 56 °C afin de lyser les protéines. Après l'incubation, 30 µL de NaCl saturé 6M a été ajouté au broyat. Une centrifugation à 12000 trs / min pendant 30 min a permis de récupérer l'ADN solubilisé dans la phase aqueuse. Enfin, l'ADN a été précipité par addition de 200 µL d'éthanol absolue, et le culot a été séché à la température ambiante toute la nuit puis ré-suspendu dans 75 µL de tampon d'éluion.

II-5-2- Sélection et géotypage des marqueurs microsatellites par la technique PCR

II-5-2-1- Sélection des marqueurs microsatellites

La sélection des marqueurs microsatellites a été réalisée en se basant sur la littérature disponible. En effet, ces marqueurs ont déjà été utilisés dans plusieurs études de la diversité

génétique et présentent un polymorphisme avéré (Dumas *et al.*, 1998 ; Adjami *et al.*, 2006). Ces amorces développées pour *Simulium damnosum* s.l ont été utilisées pour amplifier des fragments de 100 à 975 pb, selon la taille du gène (Dumas *et al.*, 1998). Quatre marqueurs microsatellites ont été choisis (Tableau III).

Tableau III : Caractéristiques des marqueurs microsatellites de *Simulium damnosum* s.l
(Dumas *et al.*, 1998)

Locus	Séquence répétée	Amorces	Désignation	Taille
60.1	(GT)AT(GT)AT(GT) ₁₀	5'-CCCATTGCCAGTTGAGGTGA-3'	SS1	150 - 975
		5'-CCCGTCAACATTGTGGCTACG-3'	SS2	
64.2	(GT)GC(GT) ₁₀	5'-ATCATGACGAGGACGCACTC-3'	SS3	110 - 510
		5'-TACGCACACATTTTTCTATTTC-3'	SS4	
7.4	(GT) ₁₁ TT(GT)	5'-CGCTAACGCTGTGCAATATTG-3'	SS7	180 - 270
		5'-TGACGAACTTTGGGACGACA-3'	SS8	
H3-4	(CAG) ₂ (CAA) ₁₀ (CA G)	5'-CGAAAACAACATACGAAGGG-3'	SS9	100 - 500
		5'-AAATTTTAAATACGTACGAGGG-3'	SS10p	

II-5-2-2- Génotypage des marqueurs microsatellites par la technique PCR

II-5-2-2-1- Composition du milieu réactionnel

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a été réalisée dans un volume final de 25 µL de mélange réactionnel contenant 16,3 µL d'eau moléculaire, 2,5 µL du mélange MgCl₂ avec du tampon 10X, 1,5 µL des quatre (4) désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) à 200 mM, 1 µL de chaque amorce (sens et anti-sens), 0,2 µL de Taq-polymérase (1 U). A ce milieu

réactionnel a été ajouté 2,5 µL d'extrait d'ADN. Un témoin négatif a été préparé dans lequel l'ADN a été remplacé par 2,5 µL d'eau stérile.

II-5-2-2-2- Programme d'amplification de l'ADN

Les tubes contenant le milieu réactionnel ont été soumis à 40 cycles de température répétés dans le bloc chauffant d'un thermocycleur (Tableau IV). Chaque cycle comprend une dénaturation initiale de 92 °C pendant 5 min suivi d'une autre dénaturation à 92 °C pendant 30 s. Ensuite, une hybridation des amorces sur l'ADN simple brin a été effectuée à une température de 50 °C pendant 30 s. Outre la dénaturation et l'hybridation, deux élongations ont été faites, une élongation initiale à 72 °C pendant 1 min et une élongation finale à 72 °C pendant 10 min. Les couples d'amorces utilisées ont le même programme d'amplification.

Tableau IV : Programme d'amplification de l'ADN

Etape	Programme	Température (°C)	Durée (min)	Nombre de cycles
1	Dénaturation initiale	92	5	-
2	Dénaturation	92	0,5	40
	Hybridation	50	0,5	
3	Elongation	72	1	-
	Elongation finale	72	10	

II-5-2-2-3- Préparation du gel d'agarose

Les fragments d'ADN amplifiés ont été séparés en fonction de leur taille sur un gel d'agarose à 2 %. Pour la préparation du gel, 2 g d'agarose ont été dissous dans 100 mL d'une solution de TBE 0,5X à l'aide d'une plaque chauffante (WiseStir MSH-20D). Le gel d'agarose obtenu est immergé dans une solution de 50 µg/mL de bromure d'éthidium pendant 5 min puis coulé dans le moule à gel contenant un peigne à puits. Après solidification du gel, le peigne est retiré

délicatement et le gel est placé dans la cuve à électrophorèse (ALLSHENG Mini-ES2) contenant le tampon de migration TBE 0,5X.

II-5-2-2-4- Migration des produits d'amplification

Un prélèvement de 5 μ L de chaque amplicon a été mélangé avec 3 μ l de bleu de charge (1X) puis déposé dans des puits à l'aide d'une micropipette. Ce tampon a pour rôle de faciliter le dépôt des échantillons dans les puits et de pouvoir suivre la migration de l'ADN. Un marqueur de taille Φ X174, qui donne des tailles de références allant de 72 à 1018 pb, a été déposé dans le premier puits du gel à raison de 3 μ L.

II-5-2-2-5- Electrophorèse sur gel d'agarose

Après 45 min de migration sous une tension de 100 V, les produits de PCR ont été séparés en présence du marqueur de poids. Le gel a été observé à l'aide d'un transilluminateur (BioDOC-IT System) à rayon ultraviolet et un système de photo documentation a permis de numériser le résultat. La position des signaux de fluorescence a été calibrée. Lorsqu'une seule bande est observée, on parle d'un profil homozygote et quand deux (2) bandes sont observées, on parle d'un profil hétérozygote.

II-6- Analyses statistiques des données

Le logiciel Excel (Microsoft office, 2013) a été utilisé pour la saisie des données. Les bases de données ainsi élaborées, ont servi aux calculs des indices entomologiques, l'estimation de la diversité génétique intrapopulation, la différenciation et la structuration génétique entre les populations.

II-6-1- Paramètres estimés de *Simulium damnosum* s.l

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel R (version Ri 368 3.4.4). Un test de Chi-2 d'indépendance a été utilisé pour comparer les paramètres estimés. Ce test a permis de comparer la densité moyenne de piqûres reçues entre les différents sites de captures et également entre les saisons sèches et les saisons de pluies. Lorsque plusieurs cellules des tableaux de contingence ont des valeurs faibles, le test du chi-2 est validé pour le test exact de Fisher qui est valide quelques soient les effectifs théoriques utilisés. Les résultats sont considérés significatifs lorsque la valeur de la probabilité p (valeur p) est inférieure ou égale à 0,05 ($p \leq 0,05$). La valeur p représente le degré de signification qui correspond à la probabilité qu'un résultat d'une étude puisse être accepté au seuil de 95 %. Les paramètres entomologiques étudiés ont été :

+ Taux d'agressivité journalière (TAJ)

Cet indice renseigne sur le nombre de piqûres de simules reçues par une personne exposée onze heures par jour en un endroit donné. Pour connaître la quantité de piqûres reçues par homme / jour pour un site donnée, il faut diviser la prise journalière de simules par le nombre de captureurs.

$$\text{TAJ} = \frac{\text{Nombre de simules capturées}}{\text{Nombre de jours de captures X Nombre de captureur}}$$

+ Variation horaire de la nuisance simulidienne (VHNS)

Cet indice est exprimé en nombre de piqûres / homme / heure. Il indique la variation de la moyenne de piqûres de simules entre les différentes périodes de la journée de capture.

$$\text{VHNS} = \frac{\text{Nombre de simules capturées}}{\text{Nombre d'heures de captures X Nombre de captureurs}}$$

+ Taux de parturité (TP),

Le taux de parturité est défini par le rapport du nombre de femelles ayant effectué un ou plusieurs cycles gonotrophiques sur le nombre de femelles disséquées. Cet indice renseigne sur l'âge de la population simulidienne et la possibilité d'héberger des larves d'*O. volvulus*.

$$\text{TP} = \frac{\text{Nombre de femelles pares X 100}}{\text{Nombre de femelles disséquées}}$$

✚ Taux mensuel de piqûres (TMP)

Cet indice renseigne sur le produit du nombre théorique de piqûres de simulies reçues mensuellement par une personne en un endroit donné.

$$\text{TMP} = \frac{\text{Nombre de simulies capturées par jour} \times \text{Nombre de jours dans le Mois}}{\text{Nombre de jours de captures}}$$

✚ Variation saisonnière de la nuisance simulidienne entre les localités

Ce paramètre est déterminé par le nombre de piqûres reçues par une personne vivant en saison de pluies et en saison sèche dans les localités d'étude. Il traduit la densité saisonnière de la moyenne de piqûres des simulies dans les localités.

II-6-2- Diversité génétique des populations simulidienne

La diversité génétique au sein de la population des simulies a été analysée à deux niveaux. Il s'agit de la variabilité intrapopulation et la variabilité interpopulation.

II-6-2-1- Variabilité intrapopulation

Pour décrire la diversité génétique intrapopulation, six paramètres susceptibles de synthétiser les informations les plus importantes comme le nombre moyen d'allèles par locus (A), le taux de polymorphisme (P), le déséquilibre de liaison (DL), le taux moyen d'hétérozygotie observée (H_o), le taux moyen d'hétérozygotie attendue (H_E) et le coefficient de consanguinité (F_{IS}) ont été calculés. Ces paramètres ont été estimés pour chaque locus et la moyenne a été prise sur l'ensemble des loci, à l'aide des logiciels Fstat version 2.9.4 (Goudet, 2003) et GENETIX version 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004). Le logiciel CREATE a été également utilisé pour mettre en forme les tableaux d'analyse.

✚ Nombre moyen d'allèles par locus (A)

Cet indice est déterminé par le nombre total d'allèles à un locus donné divisé par le nombre total de loci. Il traduit la richesse en allèles d'une population. Lorsque la richesse allélique est supérieure à 2 ($A > 2$), on a une forte richesse allélique.

✚ Taux de polymorphisme (P)

C'est le pourcentage de loci polymorphes dans l'échantillon étudié. La probabilité d'observer au moins deux allèles à un même locus dépend des fréquences respectives des allèles et aussi

de la taille de l'échantillon. Un locus est considéré polymorphe dans le cas où l'allèle le plus fréquent a une fréquence inférieure ou égale à 0,95.

✚ Déséquilibre de liaison

Il réfère à l'association non aléatoire entre les allèles de deux loci. Cet indice a été testé pour chaque paire de locus et dans chaque population à l'aide du logiciel GENETIX 4.05.2. Le niveau de significativité de chaque test est ensuite ajusté en tenant compte du nombre de tests effectués simultanément selon la procédure séquentielle de Bonferonni (Rice, 1989). Selon cette procédure, un test significatif sur 21 représente la proportion attendue sous l'hypothèse nulle. La p -value corrigée selon la procédure de Bonferroni est définie comme suite :
 $p_{\text{Bonferroni}} = p * nbp$

✚ Proportions de Hardy-Weinberg

Relatives aux fréquences en hétérozygotes et homozygotes, elles renseignent sur le statut génétique de la population. Deux hétérozygoties ont été calculées : l'hétérozygotie attendue (H_E) sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg, qui est égale à $2pq$ et l'hétérozygotie observée (H_o). La population étudiée est une population diploïde où coexistent deux allèles en un locus : A et a en fréquences respectives p et q . Si les hypothèses du modèle de Hardy-Weinberg sont respectées, H_o sera égal à H_E . Si l'hétérozygotie observée est inférieure à l'hétérozygotie attendue ($H_o < H_E$), cela signifie qu'il y a plus d'homozygotes que prévus dans les populations étudiées. Les populations ont été testées aux conditions du modèle de Hardy-Weinberg ($H_E = H_o$) ou non ($H_E < \text{ou} > H_o$), à l'aide du logiciel GENETIX 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004).

✚ Coefficient de consanguinité (F_{IS})

Le coefficient de consanguinité (F_{IS}) a été calculé à l'intérieur de la sous-population par la formule : $F_{IS} = (H_E - H_o) / H_E$. Cet indice renseigne donc sur la déviance de l'hétérozygotie observée chez un individu dans la population par rapport à l'hétérozygotie attendue en cas de reproduction aléatoire (modèle de Hardy-Weinberg). F_{IS} varie de -1 à +1. Les valeurs négatives correspondant à un excès d'hétérozygotes, les valeurs positives à un déficit en hétérozygotes et une valeur nulle correspondant donc à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

II-6-2-2- Différenciation et structure génétique entre les populations

La différenciation et la structuration génétique entre les populations ont été étudiées à l'aide des paramètres suivants :

✚ Indice de différenciation (F_{ST}) de Wright (1963)

Cet indice exprime la diminution de l'hétérozygotie liée à la divergence entre la sous-population et la population totale. Il a été calculé pour chaque paire de population, et a été utilisé comme indice de différenciation génétique entre les sous-populations (Wright, 1969 ; Weir & Cockerham, 1984). Il varie de 0 à 1. Si le F_{ST} est égal ou très proche de 0, cela signifie qu'il y a de nombreux échanges génétiques entre les populations (peu de différenciation génétique, population panmictique). A l'inverse, si le F_{ST} est proche de 1, cela se traduit par une forte différenciation génétique entre les populations, suggérant qu'il y'a très peu voire aucun flux de gènes entre les populations. D'après Wright (1978), un F_{ST} compris entre 0 et 0,05 révèle une différenciation faible ; un F_{ST} compris entre 0,05 et 0,15 traduit une différenciation modérée ; un F_{ST} compris entre 0,15 et 0,25 suggère une différenciation importante. Au-delà de 0,25, le F_{ST} illustre une différenciation très importante. Ces calculs ont été réalisés avec le logiciel Fstat (Goudet, 2003).

✚ Marqueurs sous sélection

Les marqueurs sous sélection ont été détectés à partir des estimations de différenciation F_{ST} entre, et dans les populations (Weir & Cockerham, 1984) grâce au logiciel FDIST2 (Beaumont & Nichols, 1996). Les loci présentant des différenciations trop fortes (+ 95 %) ou trop faibles (- 5 %) sont supposés subir la sélection naturelle (Beaumont & Nichols, 1996). La capacité des marqueurs à différencier les populations a également été étudiée.

✚ Analyse factorielle de correspondances (AFC)

L'AFC a été effectué pour évaluer le niveau de différenciation entre populations. Cette analyse a consisté à projeter les distances génétiques entre individus sur un jeu d'axes qui maximisent les différences entre populations. L'axe 1 exprime la distance entre les individus, et le deuxième axe perpendiculaire au premier exprime l'indépendance entre les individus. Les individus analysés ont été observés comme un nuage de points dans un hyperespace. L'AFC a été réalisée à l'aide du logiciel DARwin version 6 (Perrier *et al.*, 2006).

✚ Groupes génétiques,

Montrés par le dendrogramme, les groupes génétiques ont été construits par la méthode du Neighbour Joining (Saitou & Nei, 1987) sur la matrice des dissimilarités. Pour les valeurs de dissimilarités obtenues, le logiciel DARwin assigne chaque individu de l'analyse à un génotype. Ces génotypes ont ensuite été placés dans l'arbre phylogénétique en fonction de la distance génétique qui les sépare. Des groupes génétiques sont ainsi formés.

Structuration génétique

Les populations ont été testées à l'aide du logiciel STRUCTURE v.2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000). L'analyse est basée sur une méthode de groupage qui classe les individus dans des groupes en fonction de leur génotype. Les individus ont été rangés sans prendre en compte leur origine dans un nombre prédéfini de groupes. Le nombre correct de groupes a été déterminé en estimant la probabilité logarithmique des données [$\ln P(D)$] pour chaque nombre K de populations, et en les confrontant avec la valeur de delta K (Evanno *et al.*, 2005). Cette valeur de delta K (ΔK) correspond à un taux de variation entre les vraisemblances et les variances de probabilités pour des valeurs successives de K . Un pic dans la courbe de ΔK a été alors observé pour la valeur de K correcte.

II-6-3- Détection de l'isolation par la distance

Pour chaque jeu de données simulés, avec ou sans allèles nuls, nous avons calculé les distances génétiques, la matrice de distances géographiques étant invariable. La corrélation entre la distance géographique et la distance génétique a été calculée et testée par le test de Mantel avec le logiciel Fstat v2.9.4. Dix mille (10000) permutations ont été choisies pour le test de Mantel. Ensuite la proportion du test de Mantel significatifs au seuil de 5 % a été calculée, ce qui a servi de critère de comparaison entre les distances génétiques.

II-6-4- Nombre de migrants

La différenciation génétique entre populations est favorisée par la dérive et limitée par les flux génétiques entre les populations. Le nombre de migrants effectifs par génération (N_m) a été relié à la différenciation génétique F_{ST} par la relation :

$$N_m = (1 - F_{ST}) / 4F_{ST}$$

N_m : Nombre de migrants par génération, F_{ST} : Diversité génétique interpopulation

Ce paramètre a été calculé à l'aide du logiciel Genetix version 4.05.2 (Belkhir *et al.*, 2004).

III - RESULTATS

III-1- Faune simuliidienne

Un total de 4 244 simulies a été capturé pour toutes les captures avec respectivement 1 333 à Soubré, 881 à Bouaflé et 2 030 à Touba (Tableau V). L'identification morphologique des simulies révèle l'existence de deux groupes d'espèces. Il s'agit des espèces du groupe savane (*Simulium damnosum s.s* et *Simulium sirbanum*) (2900 simulies) et des espèces du groupe forêt (*Simulium squamosum*, *Simulium sanctipauli*, *Simulium soubrense*) (1344 simulies). Le groupe forêt est constitué de 1 333 simulies capturées à Soubré, 5 à Bouaflé et 6 à Touba. Quant au groupe savanicole, 876 et 2 024 simulies ont été capturées respectivement à Bouaflé et Touba. Cependant, aucune simulie du groupe savane n'a été capturée à Soubré.

Tableau V : Résultats de capture des simulies dans les différentes localités

Populations	Localités			Total
	Soubré	Bouaflé	Touba	
Simulies forêt	1 333	5	6	1344
Simulies savane	0	876	2 024	2 900
Total	1 333	881	2 030	4 244

III-1-1- Taux de piqûres journalières

III-1-1-1- Site de Soubré

Le taux moyen de piqûres journalières est de 112 piqûres / homme / jour à Soubré, équivalent à un taux mensuel de piqûres (TMP) de 13 330 (Tableau VI). Les variations journalières du nombre de piqûres reçues montrent un pic matinal et un pic en fin de l'après-midi, séparés par une déflation correspondant aux heures les plus chaudes de la journée (Figure 30). Le pic matinal s'obtient entre 7 et 8 heures. A partir de 15 heures, il a été enregistré une augmentation du nombre de piqûres qui culmine entre 17 et 18 heures.

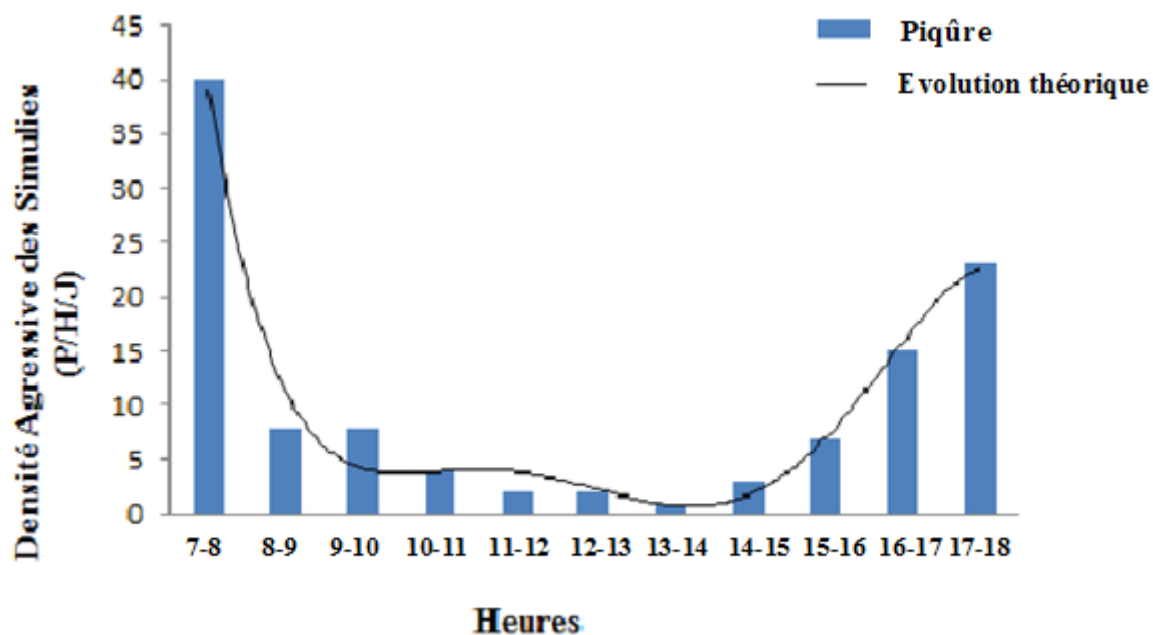


Figure 30 : Variation journalière du taux de piqûres dans la zone de Soubré, Côte d'Ivoire.

Tableau VI : Nuisance simulidienne journalière et mensuelle selon les différentes localités en Côte d'Ivoire

	Localités		
	Soubré	Bouaflé	Touba
Nombre simulies capturées	1333	881	2030
Nbre p/H/j	112	74	170
TMP	13 330	8 810	20 300

Nbre p/H/j : Nombre de piqûres / homme / jour, TMP : Taux mensuel de piqûres

III-1-1-2- Site de Bouaflé

Le taux moyen de piqûres journalières obtenu dans la zone de Bouaflé est de 74 piqûres / homme / jour, équivalent à un taux mensuel de piqûre (TMP) de 8 810 (Tableau VI). Les variations journalières du nombre de piqûres reçues présentent deux pics, dont l'un matinal et l'autre crépusculaire ou tardif (Figure 31). Le pic matinal s'obtient entre 9 et 10 heures. A partir de 14 heures, il a été enregistré une augmentation du nombre de piqûres qui culmine entre 17 et 18 heures.

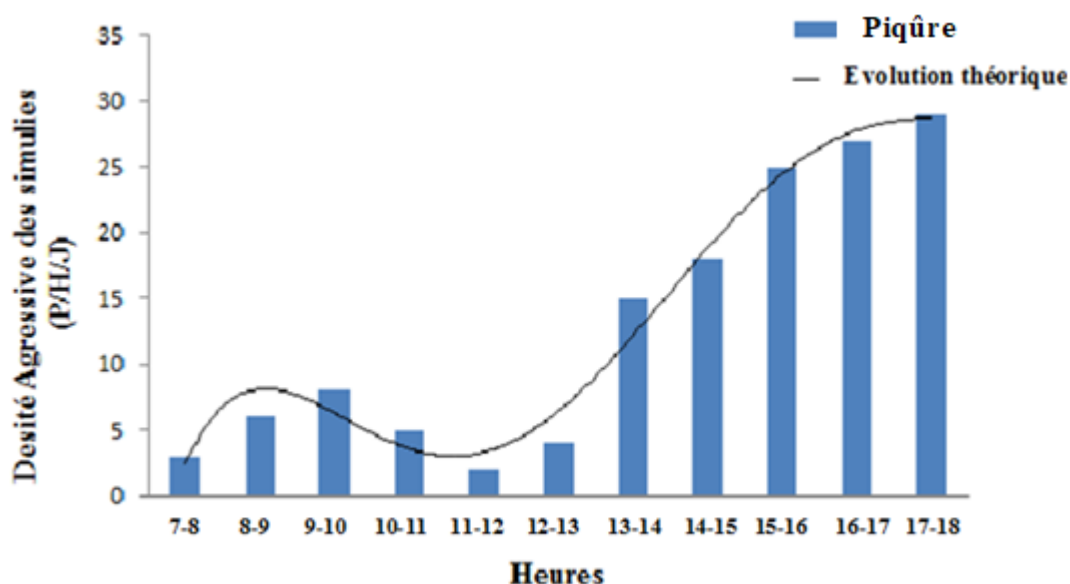


Figure 31 : Variation journalière du taux de piqûres dans la zone de Bouaflé, Côte d'Ivoire.

III-1-1-3- Site de Touba

Le taux moyen de piqûres journalières enregistré dans la zone de Touba est de 170 piqûres / homme / jour, équivalent à un TMP de 20 300 (Tableau VI). A partir de 12 heures, il a été enregistré une augmentation du nombre de piqûres qui atteint un maximum entre 15 et 16 heures. Cependant, aucune piqûre n'a été enregistrée entre 7 et 8 heures (Figure 32).

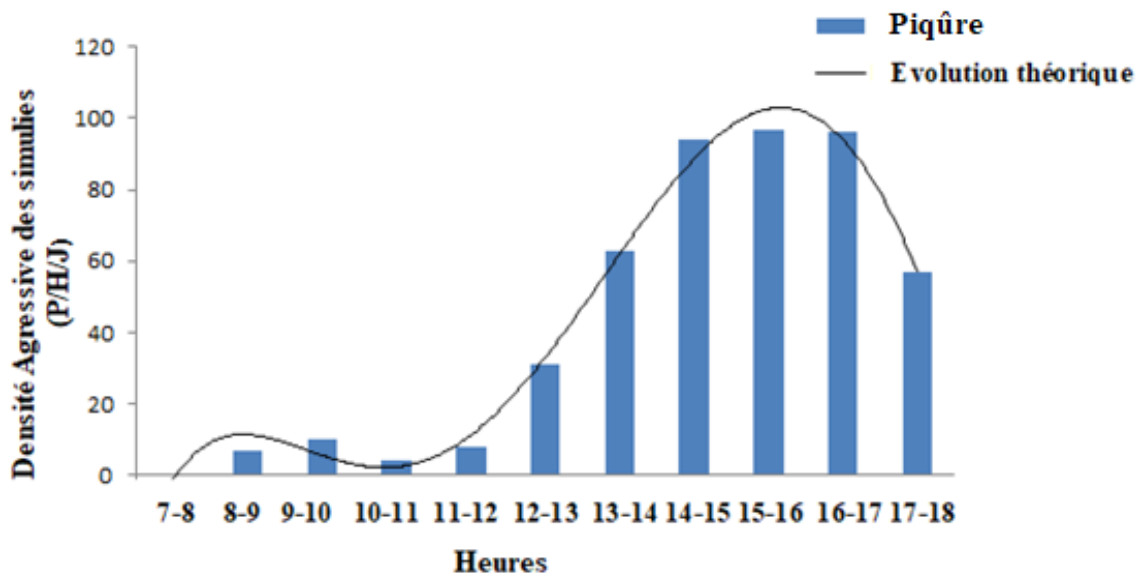


Figure 32 : Variation journalière du taux de piqûres dans la zone de Touba, Côte d'Ivoire.

III-1-2- Période journalière et nuisance simulidienne

III-1-2-1- Site de Soubré

La comparaison entre les périodes journalières et la nuisance simulidienne révèle une différence significative entre le nombre de piqûres reçues et les différentes périodes de la journée ($p = 0,0121$) (Figure 33). Une différence significative a été observée entre le nombre de piqûres reçues la matinée et l'après-midi ($\chi^2 = 3,681$; $p = 0,027$). Il en a été de même entre les heures de l'après-midi et celles du soir ($\chi^2 = 6,88$; $p = 0,018$). Les moyennes de 42,4, 2,03 et 22,3 piqûres / homme / heure ont été enregistrées respectivement dans la matinée, l'après-midi et le soir (Tableau VII).

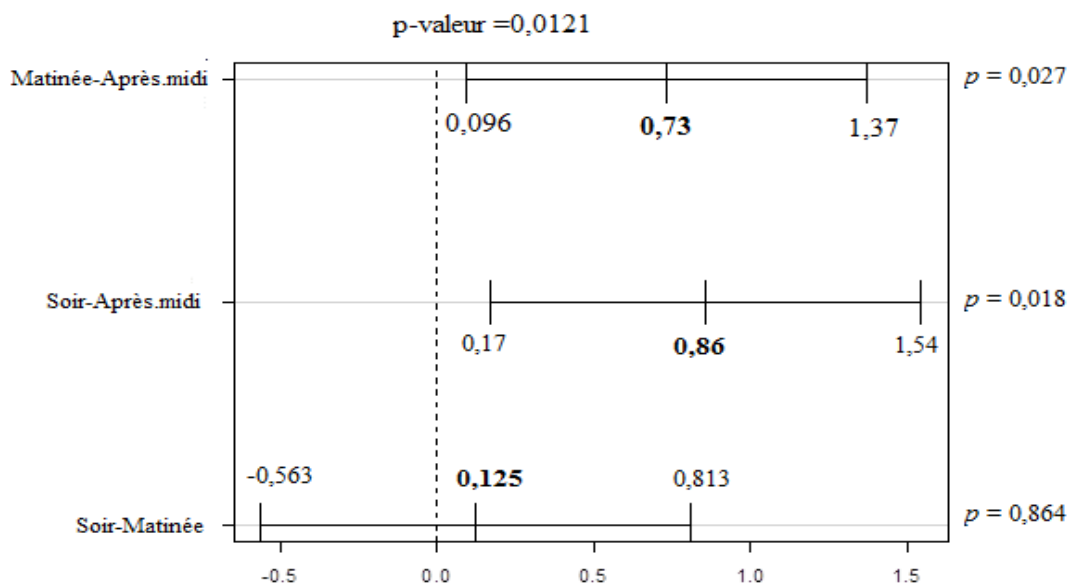


Figure 33 : Variation périodique de la moyenne des piqûres des similies à Soubré.

III-1-2-2- Site de Bouaflé

La comparaison entre les périodes journalières et la nuisance simulidienne révèle à Bouaflé une différence significative entre le nombre de piqûres reçues et les périodes de la journée ($p = 0,0015$) (Figure 34). Une différence significative a été observée, entre le nombre de piqûres reçues l'après-midi et le soir ($\chi^2 = 16,81$; $p = 0,006$) d'une part, et entre les heures du soir et de la matinée ($\chi^2 = 36,88$; $P = 0,0015$) d'autre part. La moyenne de 5,04 piqûres / homme / heure a été enregistrée dans la matinée, de 10,06 piqûres / homme / heure dans l'après-midi et de 27,1 piqûres / homme / heure le soir (Tableau VII).

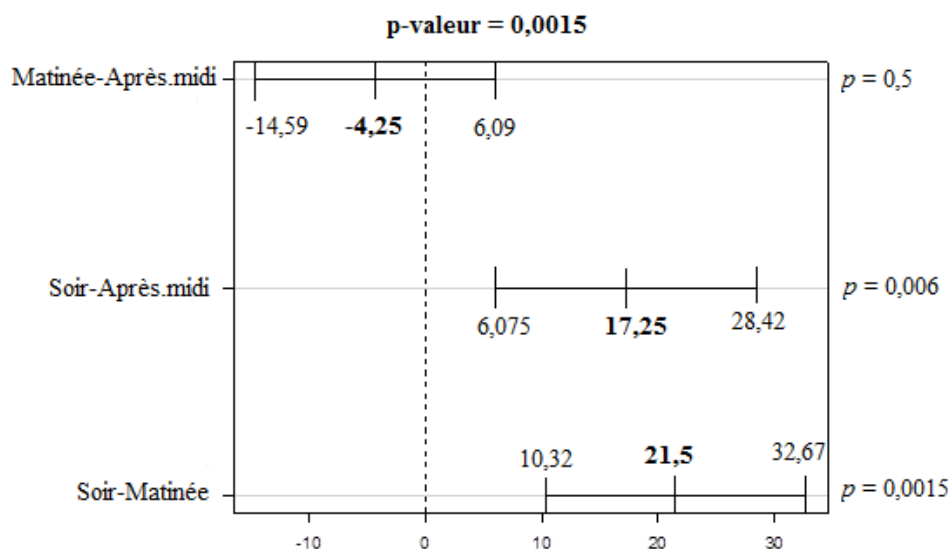


Figure 34: Variation périodique de la moyenne des piqûres des simules à Bouaflé.

III-1-2-3- Site de Touba

La comparaison entre les périodes journalières et la nuisance simulidienne révèle à Touba une différence significative entre le nombre de piqûres reçues et les périodes de la journée ($p = 0,029$) (Figure 35). Une différence significative a été seulement observée entre le nombre de piqûres reçues la matinée et le nombre de piqûres reçues le soir ($\chi^2 = 8,97 ; p = 0,012$). Les moyennes respectives de 12,06 et 83,06 piqûres / homme / heure ont été enregistrées dans la matinée et le soir (Tableau VII).

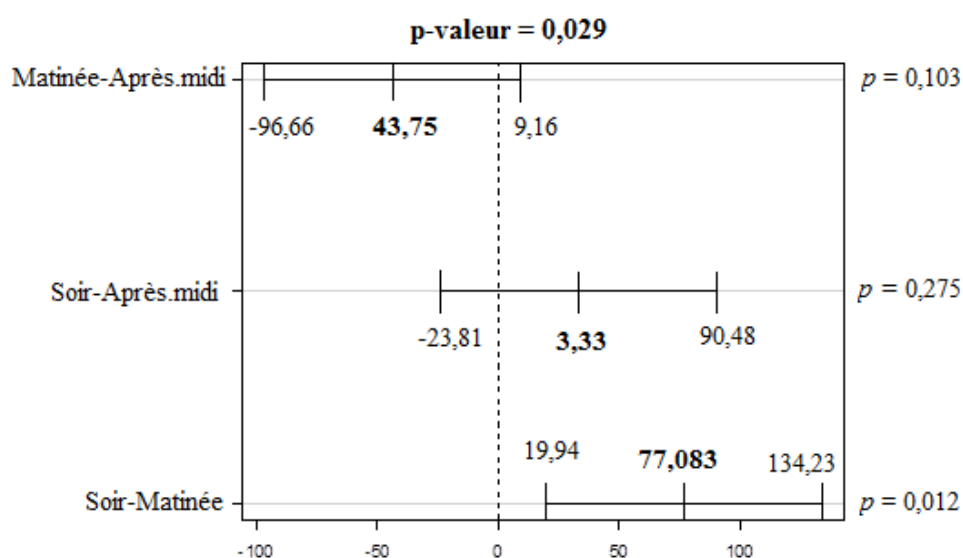


Figure 35 : Variation périodique de la moyenne des piqûres des simules à Touba

Tableau VII : Variation périodique de la moyenne de piqûres dans les localités d'étude en Côte d'Ivoire.

Localité	Soubré			Bouaflé			Touba		
	Mat	PM	Soir	Mat	PM	Soir	Mat	PM	Soir
Nbre pq	210	6	66	25	30	81	60	0	415
Moyenne (\pm sd)	42,4 \pm 0,5	2,03 \pm 0,05	22,3 \pm 0,6	5,04 \pm 0,04	10,06 \pm 0,05	27,1 \pm 0,1	12,06 \pm 0,06	0	83,06 \pm 0,05
CV (%)	1,17	2,46	2,69	0,99	0,47	1,4	0,66	0	0,06

Nbre p : Nombre de piqûres, **CV** : Coefficient de variation, **sd** : Ecart-type, **Mat** : Matinée, **PM** : Après-midi

III-1-3- Age physiologique des simulies

Sur un total de 4244 simulies capturées, 2150 ont été disséquées, notamment 672 à Soubré, 448 à Bouaflé et 1030 à Touba (Tableau VIII). Le taux de dissection a été de 50,41 % à Soubré, 50,85 % à Bouaflé et 50,73 % à Touba. Sur ce nombre disséqué, des effectifs de 367, 272 et 682 simulies ont été révélées pares dans ces localités respectives. Le taux de parturité moyen a été de 54,61 % à Soubré, 60,71 % à Bouaflé et 66,21 % à Touba.

Tableau VIII : Taux de parturité des simulies à Soubré, Bouaflé et Touba, Côte d'Ivoire

	Localités			
	Soubré	Bouaflé	Touba	Total
Nombre de simulies capturées	1333	881	2030	4 244
Nombre de femelles disséquées	672	448	1030	2 150
% de dissection	50,41	50,85	50,73	50,66
Femelles pares	367	272	682	1 321
% de femelles pares	54,61	60,71	66,21	60,21
PMT	0	0	0	0

PMT : Potentiel mensuel de transmission

III-1-4- Taux d'infection naturelle

Les taux d'infections révèlent qu'aucune simulie disséquée n'a été retrouvée parasitée dans les localités de Soubré, Bouaflé et Touba. Le potentiel mensuel de transmission (PMT) a été nul pendant la période de l'étude (Tableau VIII).

III-1-5- Comparaison de la parturité simulidienne

Le taux de parturité moyen des simules disséquées est de 60,51 % (Tableau IX). Les résultats de l'analyse de la parturité révèlent des valeurs statistiquement différentes d'une localité à une autre ($\chi^2 = 23,2$; $p = 9,04.10^{-6}$). En effet, Touba présente le plus grand taux de parturité simulidienne (66,21 %).

Tableau IX : Parturité du complexe *Simulium damnosum* dans les zones d'étude

	Nombre de simules Disséquées	Pares (% parturité)	χ^2	<i>p</i> -valeur
Soubré	672	367 (54,61)		
Bouaflé	448	272 (60,71)	23,2	9,04.10⁻⁶
Touba	1 030	682 (66,21)		
Total	2 150	1 321 (60,51)		

III-1-6- Variation saisonnière et nuisance simulidienne

Aucune différence significative n'a été obtenue entre la densité de piqûre reçues pendant la saison des pluies (Juillet) et la saison intermédiaire (Octobre) ($\chi^2 = 37,22$; $p = 0,95$) (Tableau X). Il en est de même entre la densité de piqûre reçues pendant la saison sèche (Décembre) et la saison intermédiaire ($\chi^2 = 42,60$; $p = 0,83$). Cependant, une différence significative a été observée entre la densité de piqûre reçues pendant la saison des pluies et la saison sèche ($\chi^2 = 4,81$; $p = 0,022$). La densité de piqûres enregistrée en saison des pluies est environ deux fois plus importante qu'en saison sèche (OR = 1,87).

Tableau X : Variation saisonnière de la nuisance simulidienne à Soubré, Bouaflé et Touba, Côte d'Ivoire

Saisons	Coef est	OR	IC 95 %	P-valeur
Saison Pluie – Saison Sèche	0,47	1,87	1,07 - 2,38	0,022
Saison Pluie – Saison Intermédiaire	0,013	1,013	0,68 - 1,51	0,95
Saison Sèche – Saison Intermédiaire	0,044	0,96	0,64 - 1,43	0,83

OR : Odd Ratio, **IC 95 %** : Intervalle de Confiance à 95 %, **Coef est** : Coefficient Estimé

III-1-7- Comparaison entre la variation saisonnière et la nuisance simulidienne dans les localités

La comparaison entre variation saisonnière et la nuisance simulidienne dans les localités indique qu'il y'a une différence significative entre la nuisance simulidienne en saison sèche et en saison pluvieuse dans les différentes localités (Tableau XI). En effet, cette différence est élevée dans les localités de Soubré et Touba avec des valeurs de probabilités respectives de ($\chi^2 = 459,19 ; p = 2,2.10^{-16}$) et ($\chi^2 = 285,49 ; p = 2,2.10^{-16}$), tandis qu'à Bouaflé cette différence est de ($\chi^2 = 10,14 ; p = 1,4.10^{-3}$).

Tableau XI : Variation saisonnière de la nuisance simulidienne selon les localités en Côte d'Ivoire

	Effectif captures		χ^2	p-value
	Saison sèche	Saison des pluies		
Soubré	196	908	459,19	$2,2.10^{-16}$
Bouaflé	268	347	10,14	$1,4.10^{-3}$
Touba	442	1107	285,49	$2,2.10^{-16}$

III-2- Diversité génétique intrapopulations de *Simulium damnosum* s.l

III-2-1- Fréquences alléliques dans la population totale

Un total de 437 échantillons de simulies récoltées dans les localités de Soubré, Bouaflé et Touba a été génotypé avec quatre marqueurs microsatellites (locus 60.1, 64.2, 7.4, H3-4). L'analyse des profils de migration (Figure 36) obtenus après l'amplification in vitro de l'ADN (PCR) révèle dans la population totale, la présence de 33 allèles différents pour l'ensemble des loci (Figure 37). La taille des allèles varie de 100 pb dans la population de Touba à 975 pb dans la population de Bouaflé. Quant à leur distribution, elle est homogène dans les populations, mais avec des fréquences différentes. Les allèles 150, 180, 190, 194, 200, 210 et 220 pb ont été retrouvés dans au moins trois loci et chez au moins deux populations (Tableau XII). L'allèle 190 pb a été abondant aux loci 60.1, 64.2, 7.4 avec des fréquences respectives de 0,38, 0,55, 0,45 et l'allèle 290 pb a été retrouvé au locus H3-4 avec une fréquence de 0,58 (figure 37). Les allèles 100, 170, 178, 270, 290, 500, 510, 560, 603, 872 et 975 pb ont été présents dans une seule population et avec un ou deux exemplaires (Tableau XII).

III-2-1-1- Fréquences alléliques à Soubré

Au total, 139 échantillons de simulies capturées dans la localité de Soubré ont été génotypés. L'analyse des profils de migration révèle dans la population, la présence de 21 allèles différents pour l'ensemble des loci (Tableau XII). La taille des allèles varie de 110 pb au locus 64.2 à 300 pb au locus H3-4. L'allèle 180 pb est le plus abondant avec une fréquence de 0,22.

III-2-1-2- Fréquences alléliques à Bouaflé

Les analyses moléculaires effectuées sur les 151 échantillons de simulies récoltées à Bouaflé, ont révélées la présence de 22 allèles différents pour l'ensemble des loci (Tableau XII). Les tailles des allèles varient de 110 pb au locus H3-4 à 975 pb au locus 60.1. L'allèle 190 pb est le plus abondant avec une fréquence de 0,34 dans la population.

III-2-1-3- Fréquences alléliques à Touba

L'analyse des 147 simulies capturées et génotypées à Touba a révélé la présence de 20 allèles différents. Les tailles des allèles varient de 100 pb au locus H3-4 à 500 pb à ce même locus (Tableau XII). L'allèle 190 pb a été le plus abondant dans la population avec une fréquence de 0,47.

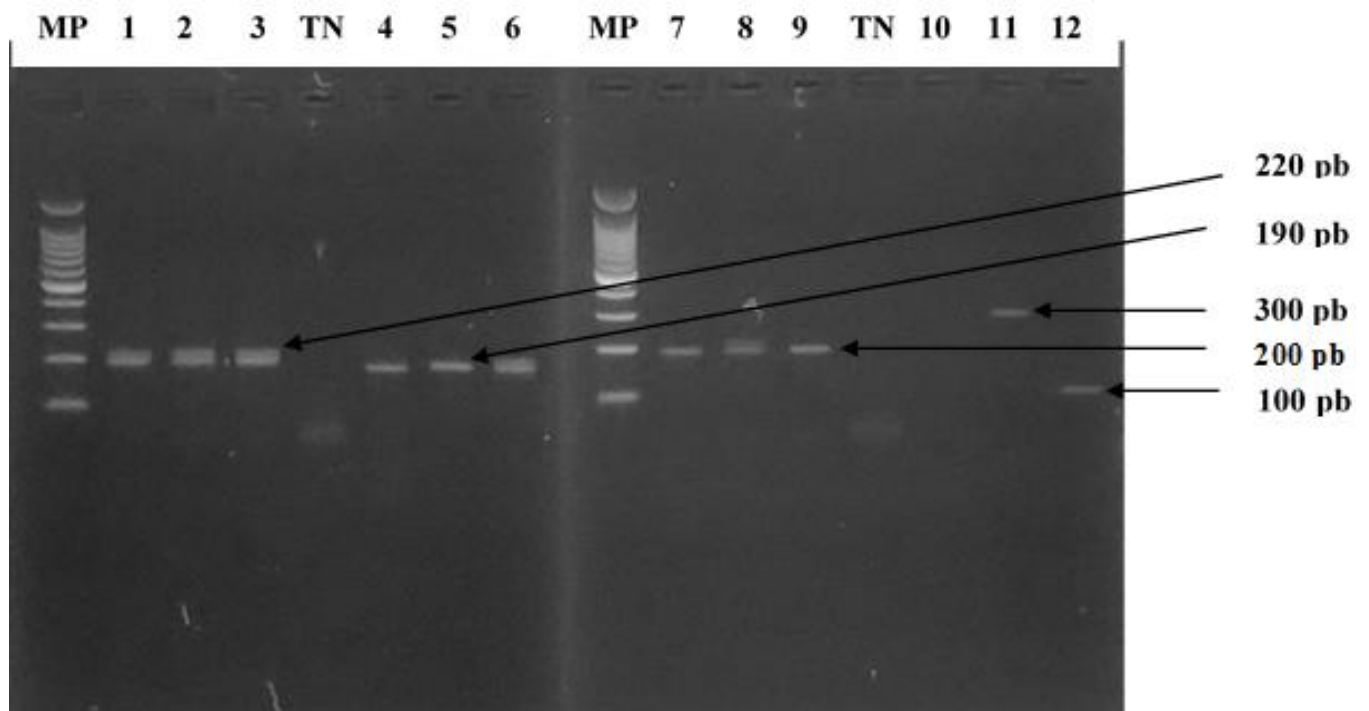


Figure 36 : Electrophorégramme sur gel d'agarose à 2 % de souches de *Simulium damnosum* de Touba (Côte d'Ivoire) amplifié avec les amorces 60.1 et H3-4.

MP : Marqueur de poids moléculaire (0174) ; **1, 2, 3, 6 et 8** : Echantillon de profil hétérozygote, **4, 5, 7, 9, 11 et 12** : Echantillon de profil homozygote ; **TN** : Témoin négatif

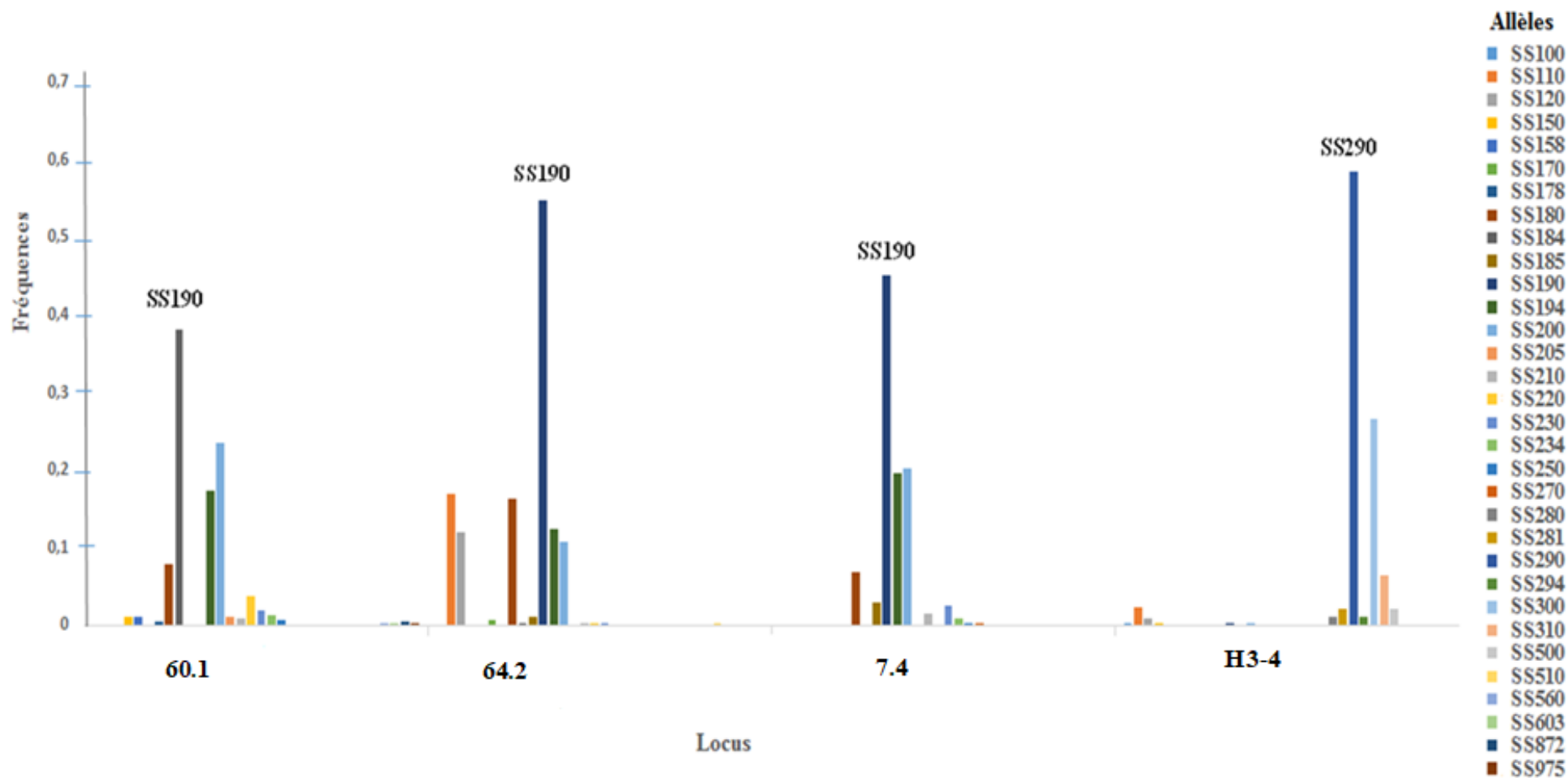


Figure 37 : Distribution des fréquences alléliques dans la population de similies analysées en fonction des marqueurs microsatellites, Côte d'Ivoire

Tableau XII : Répartition des allèles au sein des sous-populations de Soubré, Bouaflé et Touba, Côte d'Ivoire

Allèles	Touba					Bouaflé					Soubré				
	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence
SS100	0	0	0	1	0,002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS110	0	0	0	4	0,014	0	0	0	1	0,002	0	8	0	0	0,013
SS120	0	0	0	1	0,003	0	0	0	1	0,002	0	5	0	0	0,008
SS150	4	0	0	1	0,006	1	0	0	0	0,002	1	0	0	0	0,002
SS158	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0,007
SS170	0	2	0	0	0,005	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS178	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0,003
SS180	10	16	8	0	0,058	18	34	8	0	0,084	9	26	14	0	0,22
SS184	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0,001	0	0	0	0	0
SS185	0	3	9	0	0,041	0	2	1	0	0,004	0	0	0	0	0
SS190	76	86	68	1	0,47	151	68	61	0	0,34	23	57	45	0	0,19
SS194	11	13	11	0	0,04	30	31	38	0	0,18	34	15	29	0	0,14
SS200	37	16	17	0	0,119	42	22	35	0	0,123	39	20	39	0	0,153

Allèles	Touba					Bouaflé					Soubré				
	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence
SS205	6	0	0	0	0,007	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS210	5	0	5	0	0,012	0	0	2	0	0,002	1	0	0	0	0,001
SS220	2	0	0	0	0,003	4	0	0	1	0,007	9	0	0	0	0,018
SS230	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	12	0	0,031
SS234	0	0	1	0	0,002	0	0	0	0	0	6	0	3	0	0,012
SS250	0	0	1	0	0,002	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0,004
SS270	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0,002	0	0	0	0	0
SS280	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,003	0	0	0	2	0,006
SS281	0	0	0	3	0,01	0	0	0	1	0,001	0	0	0	1	0,003
SS290	0	0	0	44	0,148	0	0	0	63	0,134	0	0	0	47	0,135
SS294	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,007
SS295	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,001	0	0	0	0	0
SS300	0	0	0	14	0,042	0	0	0	42	0,084	0	0	0	23	0,051
SS310	0	0	0	10	0,023	0	0	0	11	0,019	0	0	0	0	0
SS500	0	0	0	1	0,002	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS510	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SS560	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,002	0	0	0	0	0
SS603	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,002	0	0	0	0	0

Allèles	Touba					Bouaflé					Soubré				
	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence	60.1	64.2	7.4	H3-4	Fréquence
SS872	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0,003	0	0	0	0	0
SS975	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,002	0	0	0	0	0

III-2-2- Polymorphisme et richesse allélique

L'analyse des 4 loci microsatellites a permis de détecter dans la population totale, 11 allèles au locus 60.1, 8 allèles aux loci 64.2 et 7.4 et 9 allèles au locus H3-4, soit un nombre moyen de 9 allèles par locus (Figure 38). Aussi, chaque population étudiée présente un nombre d'allèles différents, soient 5 allèles à Touba (100, 170, 200, 250, 500 pb), 8 à Soubré (184, 210, 270, 510, 560, 603, 872, 975) et 4 à Bouaflé (158, 178, 230, 294). Enfin, tous les loci ont été révélés polymorphes à 100 % au seuil de 95 % dans les trois populations.

III-2-2-1- Soubré

L'analyse des 4 loci microsatellites révèle à Soubré, 14 allèles au locus 60.1, 9 allèles au locus 64.2, 7 allèles au locus 7.4 et 6 allèles au locus H3-4, soit un nombre moyen de 9 allèles par locus (Figure 38). Tous les loci ont été révélés polymorphes à 100 % dans la population étudiée.

III-2-2-2- Bouaflé

Toutes les simulies ont été analysées avec les 4 microsatellites utilisés dans l'étude. Un total de 33 allèles a été détecté, soit un nombre moyen de 8,25 allèles par locus. Le nombre d'allèles varie entre 10 au locus 60.1, 7 aux loci 64.2 et 7.4 et 9 au locus H3-4 (Figure 38). Egalement, tous les loci ont été révélés polymorphes à 100 % dans la population étudiée.

III-2-2-3- Touba

Un total de 32 allèles a été détecté à Touba après analyse des 4 marqueurs microsatellites. Le nombre d'allèles est de 8 aux loci 60.1 et 7.4, 6 au locus 64.2 et 10 allèles au locus H3-4, soit un nombre moyen de 8 allèles par locus (Figure 38). Tous les loci ont été révélés polymorphes à 100 % dans la population étudiée.

III-2-2-4- Répartition de la richesse allélique entre les localités

Un effectif de 36, 33 et 32 allèles a été obtenu respectivement chez les simulies analysées dans les localités de Soubré, Bouaflé et Touba (Figure 38). Ce résultat montre une diminution du nombre d'allèles de la zone forêt vers la zone de savane. Cependant, le nombre d'allèles mis en évidence pour chaque localité ne diffèrent pas significativement ($\chi^2 = 6 ; p = 0,199$).

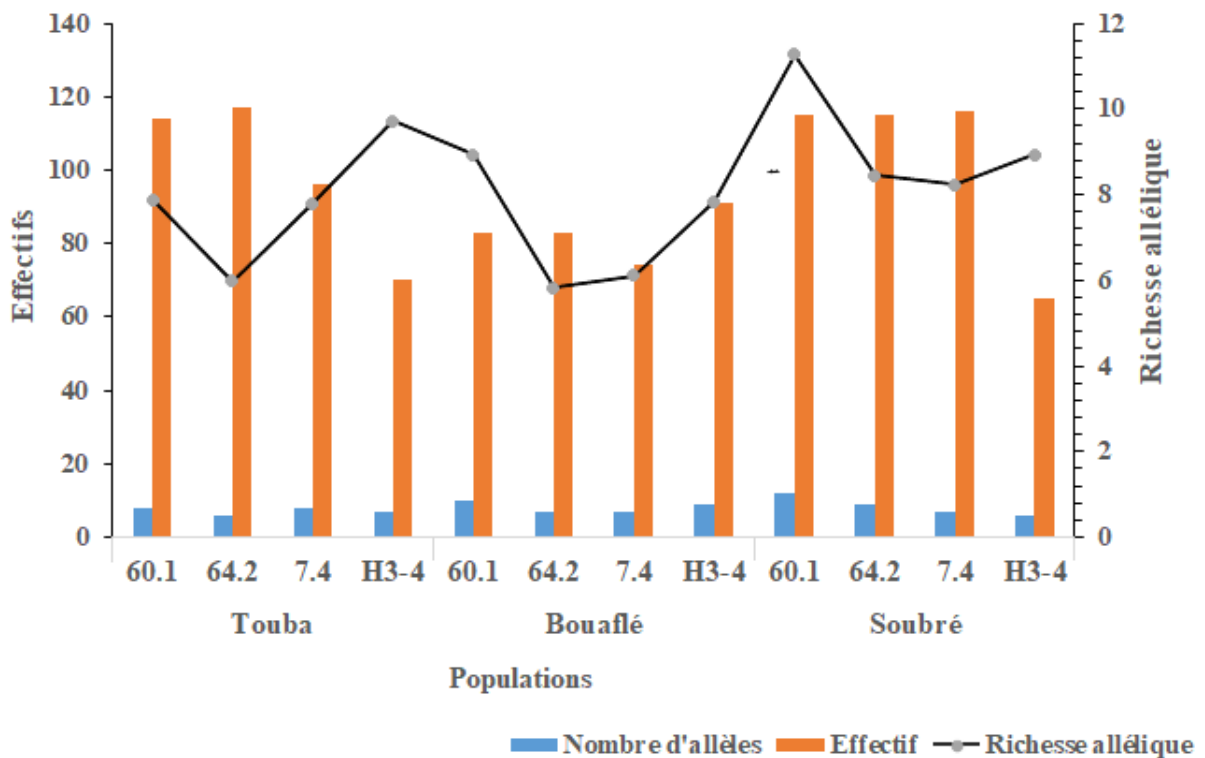


Figure 38 : Estimation de la richesse allélique des sous-populations pour chaque locus étudié à Touba, Bouaflé et Soubré, Côte d'Ivoire

III-2-3- Déséquilibre de liaison au sein des trois zones

Ce test réalisé pour chacune des 3 populations a permis d'analyser au total 961 combinaisons alléliques. Sur ce nombre testé, 40 associations alléliques ont présenté un déséquilibre de liaison significatif (Tableau XIII). Lorsque les populations sont mises ensemble, une seule combinaison sur 40, présente un déséquilibre de liaison significatif. Cependant, après la correction de Bonferroni, aucune de ces associations n'est restée significative (Tableau XIII). Ces résultats indiquent que les loci étudiés sont indépendants les uns des autres.

Tableau XIII : Résultat des tests des combinaisons alléliques

Combinaisons	<i>P</i> -value	Correction Bonferroni
SS110-SS190	0,008	0,32
SS110-SS200	0,038	1,00
SS120-SS190	0,024	1,00
SS158-SS300	0,047	1,00
SS158-SS230	0,01	0,4
SS178-SS300	0,047	1,00
SS180-SS180	0,025	1,00
SS180-SS294	0,008	0,32
SS184-SS194	0,033	1,00
SS190-SS120	0,043	1,00
SS190-SS310	0,004	1,00
SS190-SS290	0,046	1,00
SS190-SS230	0,008	0,32
SS190-SS200	0,015	0,6
SS190-SS190	0,003	0,12
SS194-SS290	0,02	0,8
SS194-SS300	0,01	0,4
SS194-SS280	0,003	0,12
SS194-SS230	0,042	1,00
SS194-SS194	0,004	0,16
SS194-SS190	0,003	0,12
SS194-SS510	0,011	0,44
SS200-SS120	0,025	1,00
SS200-SS500	0,02	0,8
SS200-SS294	0,008	0,32
SS200-SS110	0,035	1,00
SS205-SS200	0,004	0,16
SS205-SS190	0,032	1,00
SS205-SS210	0,003	0,12
SS210-SS190	0,015	0,6
SS210-SS310	0,003	0,12
SS210-SS110	0,004	0,16
SS230-SS230	0,045	1,00
SS230-SS180	0,006	0,24
SS230-SS300	0,043	1,00
SS234-SS194	0,004	0,16
SS234-SS190	0,031	1,00
SS234-SS300	0,014	0,56
SS250-SS194	0,007	0,28
SS510-SS300	0,043	1,00

III-2-4- Variabilité intra-populations

L'étude révèle que les populations étudiées ne sont pas en équilibre de Hardy-Weinberg (Tableau XIV). La différence entre hétérozygotes moyens attendus et observés est significative que ce soit par population ou par locus. Les taux d'hétérozygotes moyens observés ont été respectivement de 0,346, 0,428 à Soubré et à Bouaflé, et de 0,276, 0,543 au locus H3-4 et 60.1, ce qui est faible par rapport aux taux moyens attendus. Ces taux moyens attendus ont été de 0,670 à Bouaflé, 0,710 à Soubré, de 0,593 au locus H3-4 et de 0,724 au locus 60.1. Ensuite, la population présentant l'écart le plus important à la panmixie a été la population de Soubré ($H_o = 0,346$ et $H_e = 0,71$). Enfin, les coefficients de consanguinité (F_{IS}) sont positifs et proches de 1, ce qui indique que les populations présentent un déficit en hétérozygotes.

Tableau XIV : Etude de la diversité génétique au sein des populations *Simulium damnosum* par utilisation de marqueurs microsatellites

Locus	Touba			Bouaflé			Soubré			P-value
	N	He	F _{IS}	N	He	F _{IS}	N	He	F _{IS}	
60.1	N	147		151			139			
	N	8		10			12			
	H_o	0,429		0,543			0,469			0,0139
	H_e	0,631		0,724			0,817			0,0239
	F_{IS}	0,321		0,251			0,426			0,0466
64.2	N	6		7			9			
	H_o	0,282		0,377			0,260			0,0252
	H_e	0,480		0,680			0,721			0,0525
	F_{IS}	0,415		0,446			0,639			0,0619
7.4	N	8		7			7			
	H_o	0,333		0,385			0,379			0,0272
	H_e	0,586		0,684			0,771			0,0567
	F_{IS}	0,433		0,438			0,510			0,0625
H3-4	N	7		9			6			
	H_o	0,371		0,408			0,276			0,0264
	H_e	0,609		0,593			0,532			0,057
	F_{IS}	0,392		0,312			0,482			0,061
Moyenne	N	29		33			34			
	H_o	0,353		0,428			0,346			0,011
	H_e	0,576		0,670			0,710			0,0145
	F_{IS}	0,3879		0,3616			0,5134			0,0314

N : nombre d'individus testés dans la population ; n : nombre d'allèles ; **H_o** : hétérozygotes observés ; **H_e** : Hétérozygotes attendus, **F_{IS}** : Ecart à la panmixie selon la méthode de Weir et Cockerham (1984), **P-value** : probabilité de conformité à l'équilibre de Hardy-Weinberg

III-2-5- Effets des problèmes d'amplifications

III-2-5-1- Test de la fiabilité des marqueurs microsatellites

Les valeurs moyennes des coefficients de consanguinité (F_{IS}) : 0,365, 0,517, 0,486 et 0,387 obtenues respectivement aux loci 60.1, 64.2, 7.4 et H3-4 sont toutes positives. Le F_{IS} global est de 0,438 avec un intervalle de confiance à 95 % de [0,3 - 0,587], suggérant un déficit en hétérozygote. Par ailleurs, les loci présentent des variances assez homogènes les uns par rapport aux autres impliquant une bonne congruence des marqueurs utilisés (Figure 39).

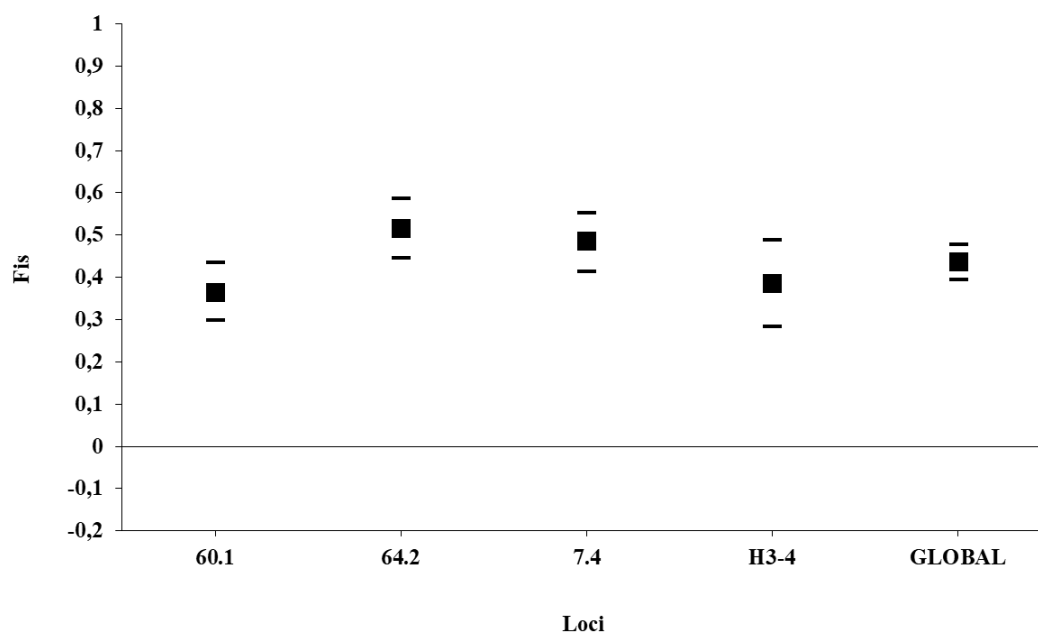


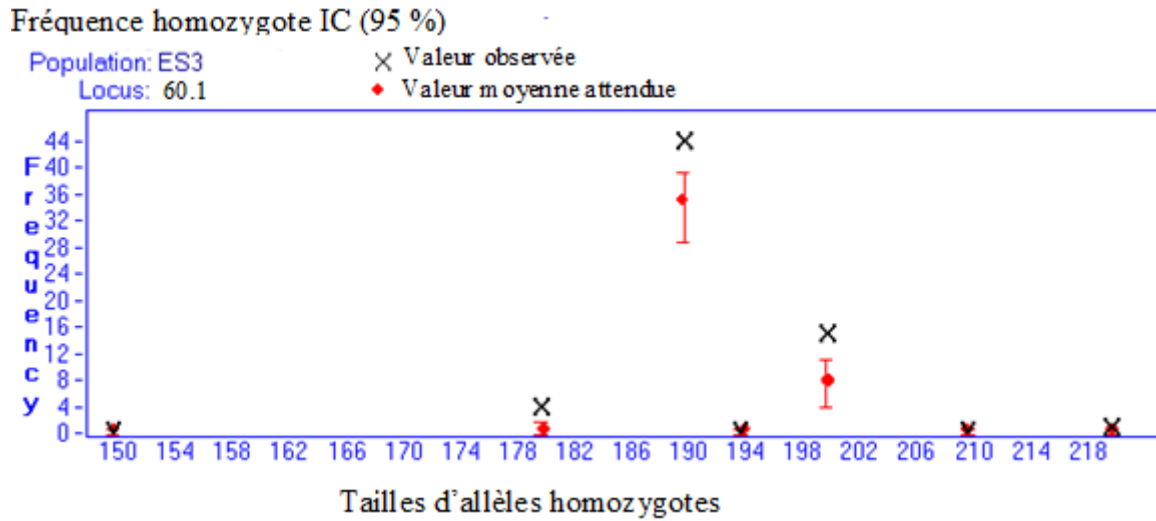
Figure 39 : Valeurs moyennes et intervalle de confiance du F_{IS} par locus et sur l'ensemble des loci pour les microsatellites de *S. damnosum* s.l.

III-2-5-2- Recherche d'allèles nuls

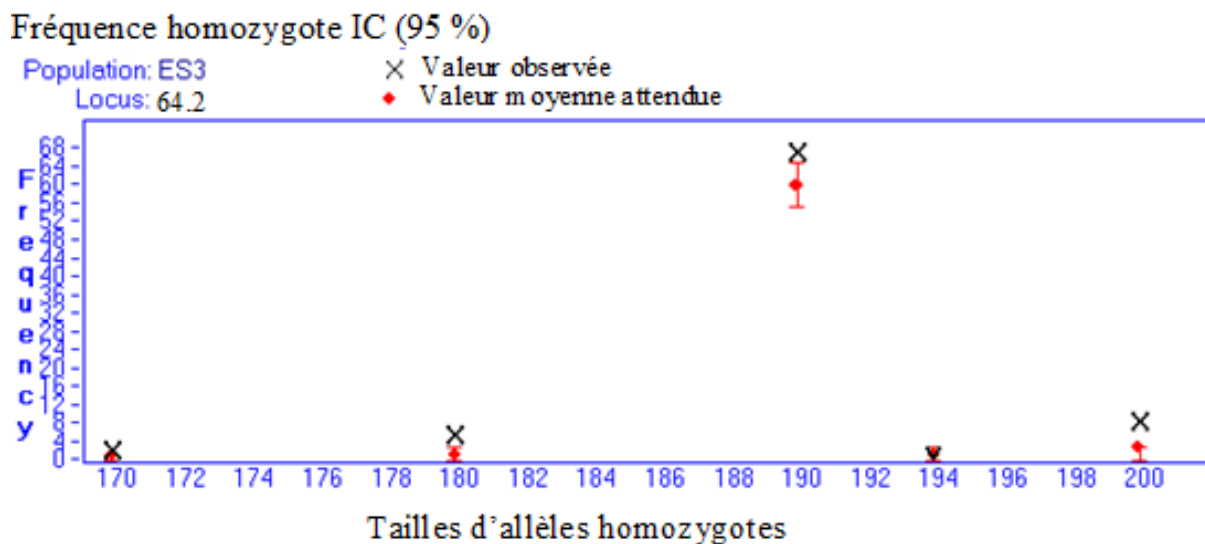
Des effectifs de 180, 250, 204 et 142 homozygotes observés sont obtenus respectivement aux loci 60.1, 64.2, 7.1 et H3-4. Ces valeurs, très élevées par rapport aux nombres d'homozygotes attendus, 86, 130, 96 et 96 respectivement, indiquent un déficit en hétérozygote à ces loci. Des allèles nuls ont également été présents à ces loci (Figure 40 a, b, c et d). La comparaison entre les fréquences des allèles nuls observés et des allèles nuls attendus révèle une différence non significative ($\chi^2 = 1,1096$; p -value = 0,7748) (Tableau XV). Ce résultat montre que les

allèles nuls expliquent les déficits en hétérozygotes observés aux loci chez les populations simulidiennes.

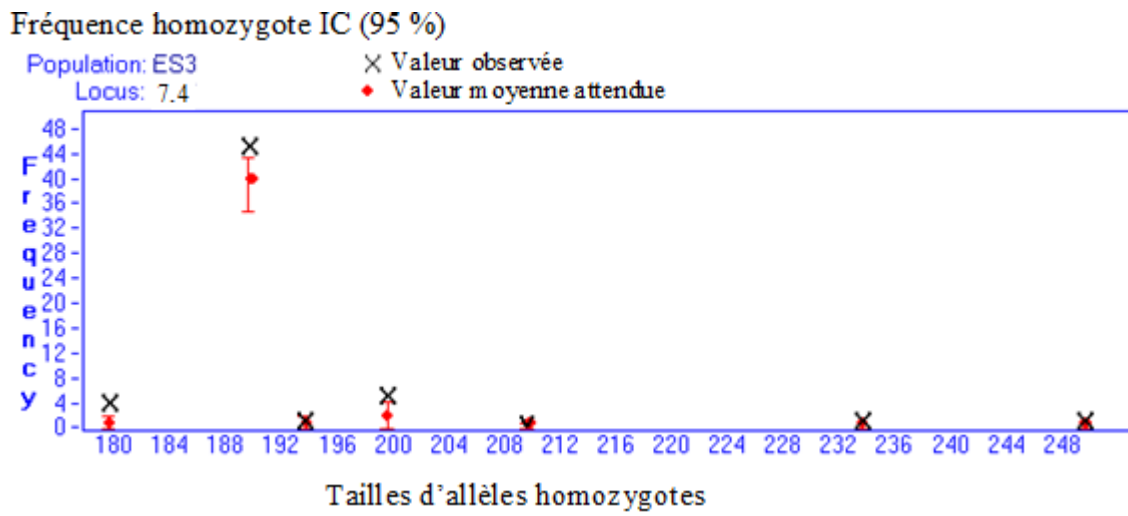
a



b



c



d

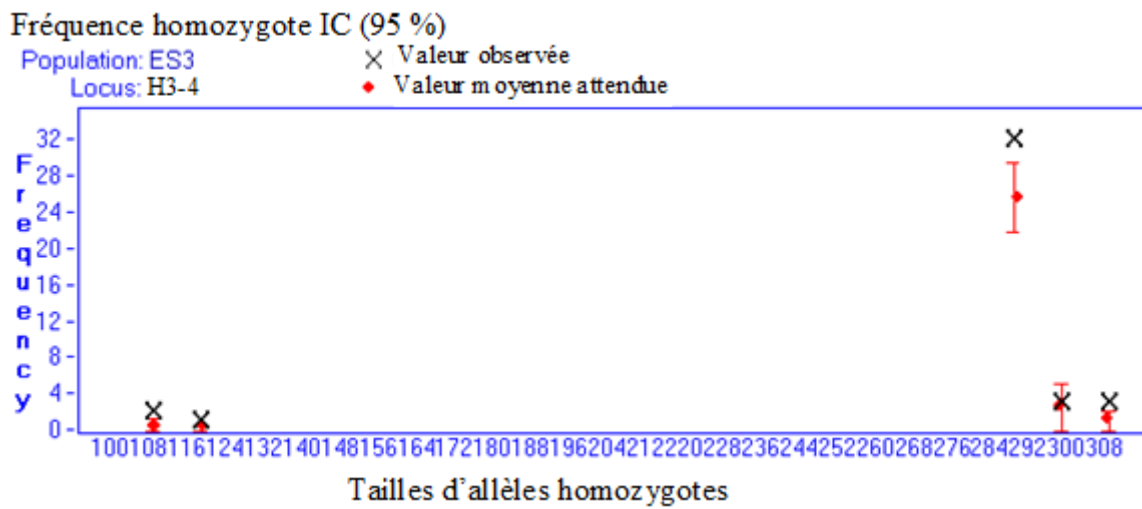


Figure 40 : Fréquence des homozygotes par locus

- a : Locus 60.1
- b : Locus 64.2
- c : Locus 7.1
- d : Locus H3-4

Tableau XV : Comparaison des estimations des fréquences des allèles nuls

Locus	Nul	Brookfield 2	PB2²	N	N'	Nul observés	Nul attendus	χ^2	<i>p</i>-value
SS12	Oui	0,434	0,188356	358	439	81	82,68		
SS34	Oui	0,4424	0,19571776	367	437	70	85,52	1,1096	0,774
SS78	Oui	0,5205	0,27092025	281	366	85	99,14		
SS910p	Oui	0,7071	0,49999041	146	282	136	140		
Tous			0,28874	1152	1524	372	407		

Nul : allèle nul ; **Brookfield 2** : méthode 2 de Brookfield ; **PB2²** : Fréquence attendue des Nuls ; **N** : individus génotypés ; **N'** : Somme de N et des nuls observés ; **Nul observés** : allèles nuls observés ; **Nul attendus** : allèles nuls attendus

III-3-4- Différenciation génétique inter-populations

La valeur de la diversité génétique intrapopulation (F_{ST}) global est de 0,046 parmi toutes les populations ($p = 0,024$), supposant une faible différenciation génétique entre les populations (Tableau XVI). Une valeur de F_{ST} par paires montre cependant une différenciation génétique modérée. Il s'agit du taux d'échange génétique entre les populations de Touba et de Soubré ($F_{ST} = 0,071$; $\chi^2 = 19,63$; $p = 0,007$). Cependant, les valeurs de F_{ST} sont relativement plus faibles entre les populations de Touba et de Bouaflé ($F_{ST} = 0,025$; $\chi^2 = 5,95$; $P = 0,057$) et entre les populations de Soubré et celle de Bouaflé ($F_{ST} = 0,042$; $\chi^2 = 9,95$; $P = 0,016$), suggérant l'existence de nombreux échanges génétiques entre les populations.

Tableau XVI : Différenciation génétique estimée par l'indice F_{ST} entre les populations de *Simulium damnosum* s.l

Loci	F_{ST}				Tous loci	p-value
	60.1	64.2	7.4	H3-4		
Touba / Bouaflé	0,032	0,022	0,010	0,037	0,025	0,057
Touba / Soubré	0,090	0,042	0,038	0,113	0,071	0,007
Soubré / Bouaflé	0,049	0,030	0,038	0,052	0,042	0,016
Total	0,057	0,031	0,028	0,067	0,046	0,024

F_{ST} : Diversité génétique interpopulation

III-4- Marqueurs sous sélection

Aucun locus microsatellite n'a été détecté pour être potentiellement soumis à la sélection naturelle. Tous les loci se situent dans l'intervalle de confiance à 95 % (Figure 41). Autour de la médiane (F_{ST} attendu sous l'hypothèse neutre), deux marqueurs 64.2 et 7.4 présentent des faibles niveaux de différenciation génétique entre les populations. Par contre, les loci 60.1 et H3-4 montrent un niveau de différenciation modérée. Par ailleurs, le locus H3-4 met en

évidence une différenciation génétique plus élevée entre les populations que les autres loci ($F_{ST} = 0,067$).

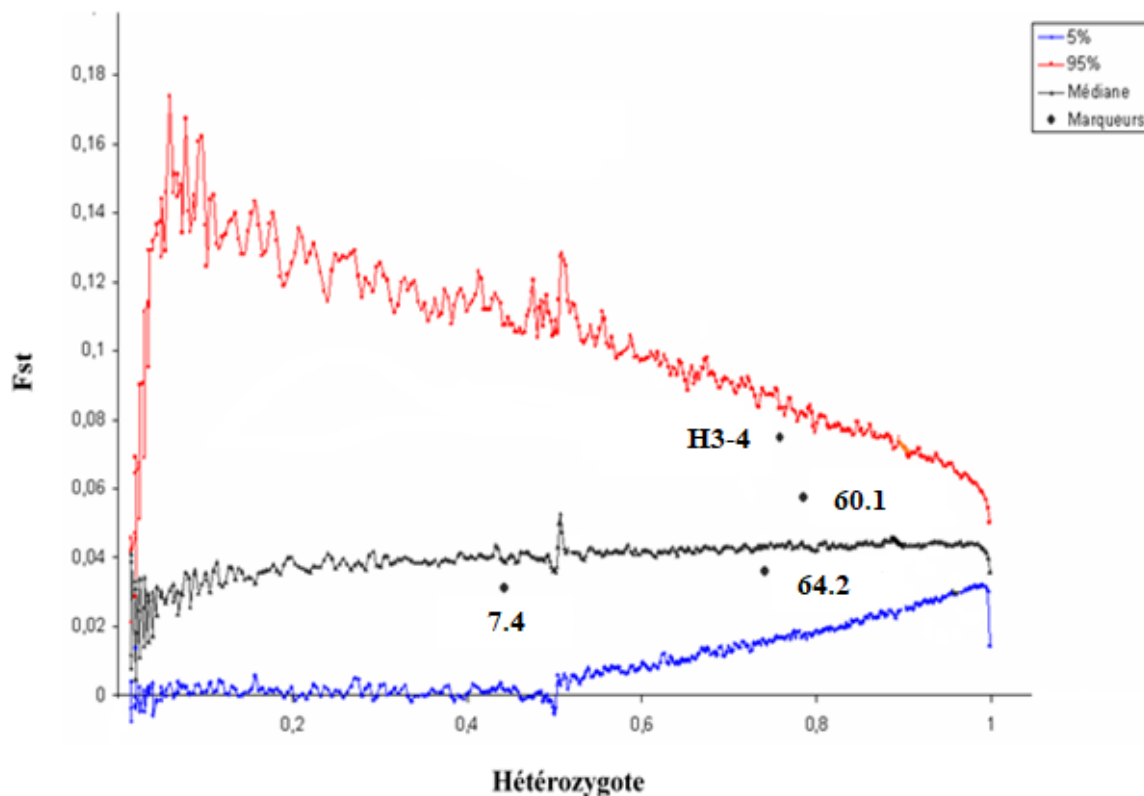


Figure 41 : Valeurs de F_{st} attendues en fonction de l'hétérozygotie avec 4 marqueurs microsatellites dans 3 populations différentes de *Simulium damnosum* s.l.

III-5- Structuration génétique de la population de *Simulium damnosum* s.l

III-5-1- Analyse Factorielle des correspondances (AFC)

L'AFC montre que le plan factoriel 1-2 explique 50,79 % de la variance totale. L'axe 1 explique 34,68 % de la variance tandis que l'axe 2 en explique 16,11 % (Figure 42). En outre, la structuration mise en évidence dans ce plan factoriel montre deux groupes génétiques distincts (GI et GII) à partir des trois zones géographiques définies. Chaque groupe génétique formé contient des simulies de forêt (en noire) et des simulies de savane (en rouge). Les groupes génétiques I (GI) et II (GII) sont caractérisés par une dominance des simulies de savane et une faible présence des simulies de forêt (Figure 42).

Analyse Factorielle (1/2)

Axe 2 : 16,11

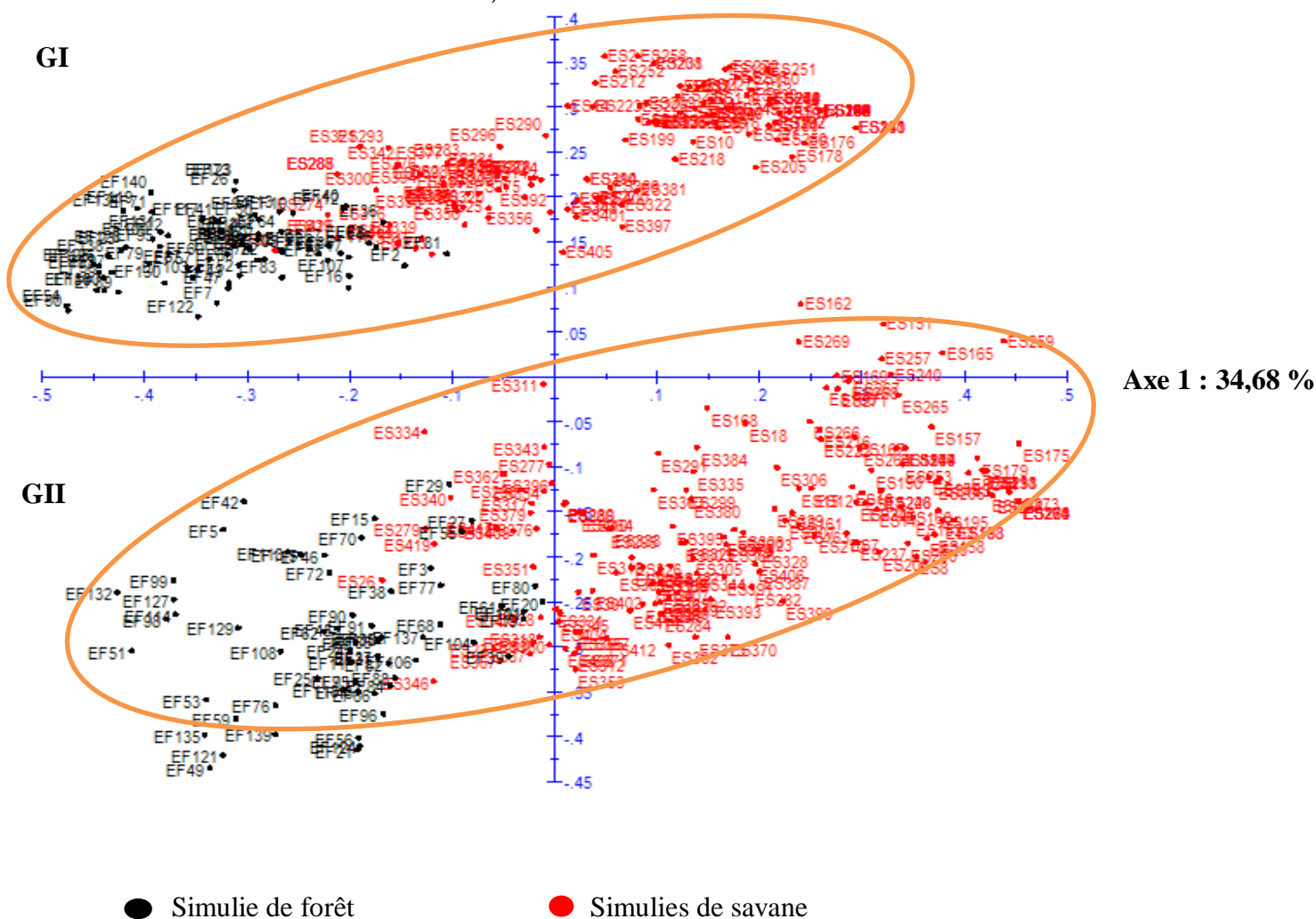
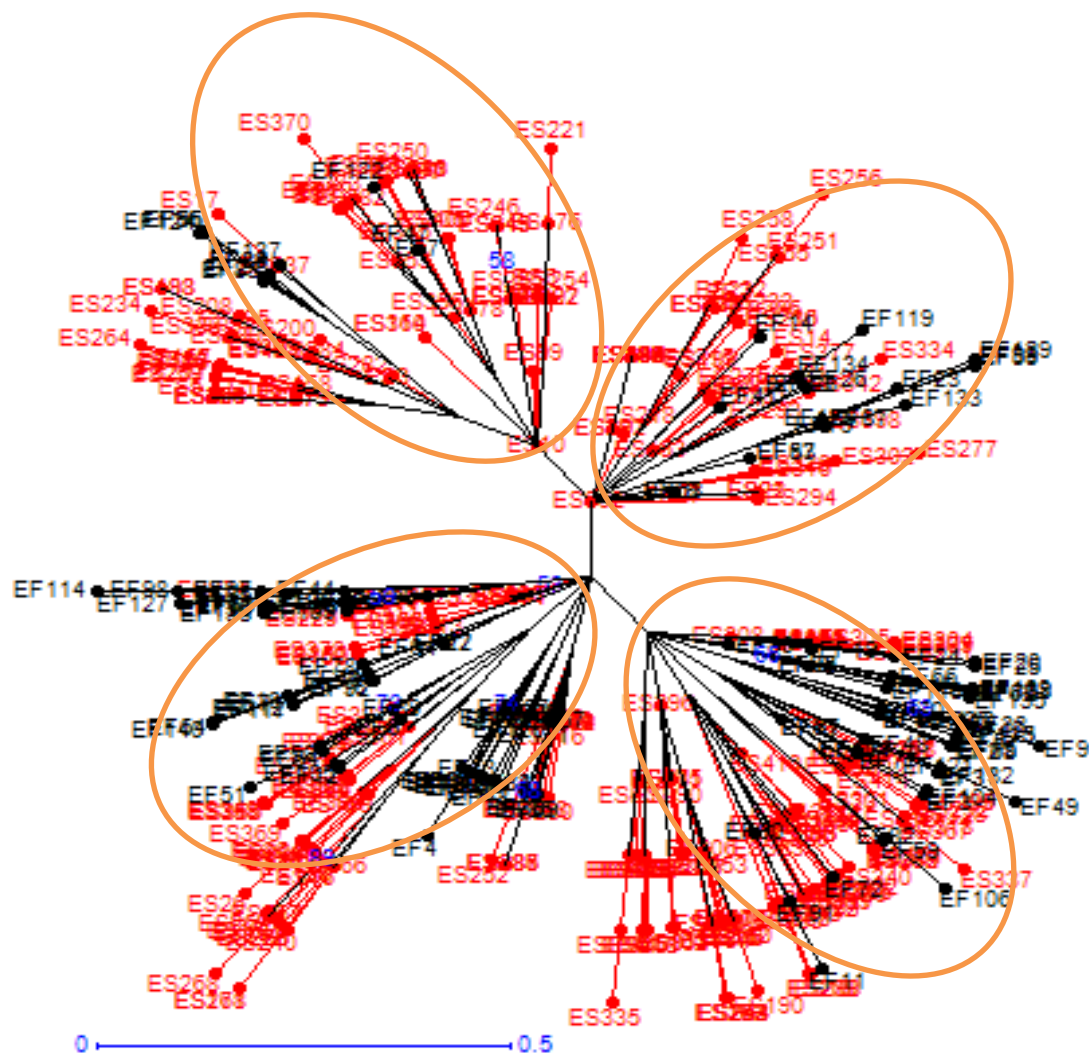


Figure 42 : Représentation des populations étudiées sur le plan 1-2 de l’analyse factorielle des correspondances

III-5-2- Groupes génétiques

L’arbre de classification obtenu avec 1 000 permutations donne un bootstrap de 0,934 avec un intervalle de confiance de [0,871 - 0,984] à 95 %. Cette classification propose un regroupement de l’ensemble des simulies génotypées en quatre groupes génétiques hétérogènes (Figure 43). Chaque groupe génétique formé contient des simulies de savane (en rouge) et des simulies de forêt (en noir). La représentation radiale du dendrogramme, montre une figure en étoile, ce qui indique une faible structuration génétique de la population de *S. damnosum* s.l.



● Simulie forêt ● Simulie savane

Figure 43 : Structuration génétique des simulies par la méthode de Neighbor Joining.

III-5-3- Analyse de la structuration génétique par la méthode d’Evanno

Les résultats de la structuration génétique par la méthode d’Evanno révèlent l’existence de trois populations pour l’espèce *S. damnosum* s.l. Le nombre de classes qui regroupent tous les individus échantillonnés sur la base de leurs génotypes est de 3 ($K = 3$) avec un maximum de vraisemblance (ΔK) d’environ 8 (Figure 44). Ce modèle a permis d’attribuer les simulies capturées aux trois classes définies (Figure 45). Chaque simulie est représentée par une barre verticale. Elle se caractérise par des probabilités données par les différentes couleurs

d'appartenance à un groupe. Ainsi, les analyses descriptives révèlent que 196 des simules échantillonnées et génotypées soit 44,85 %, sont assignées au groupe A (en rouge), 105 soit 24,02 % au groupe B (en Bleu) et 136 soit 31,13 % au groupe C (en Vert).

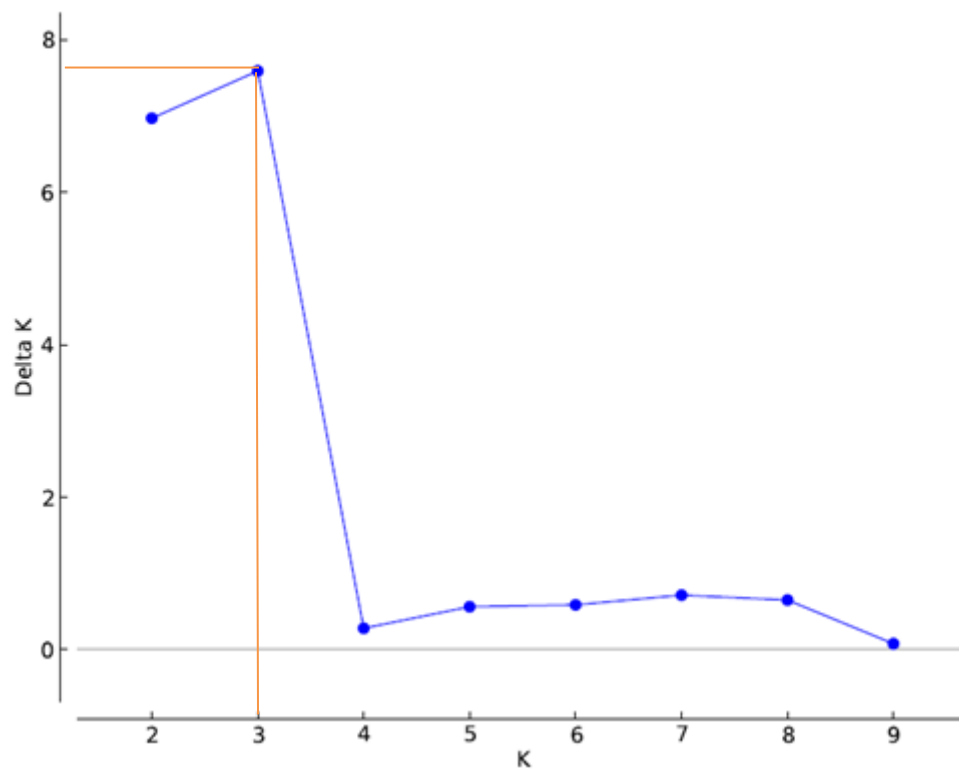


Figure 44 : Détermination du nombre de populations (K) de *Simulium damnosum* à partir de données microsattellites par la méthode d'Evanno.

- K** : Population
- Delta K** : Vraisemblance
- : Nombre de groupes
- : Nombre correcte de groupe

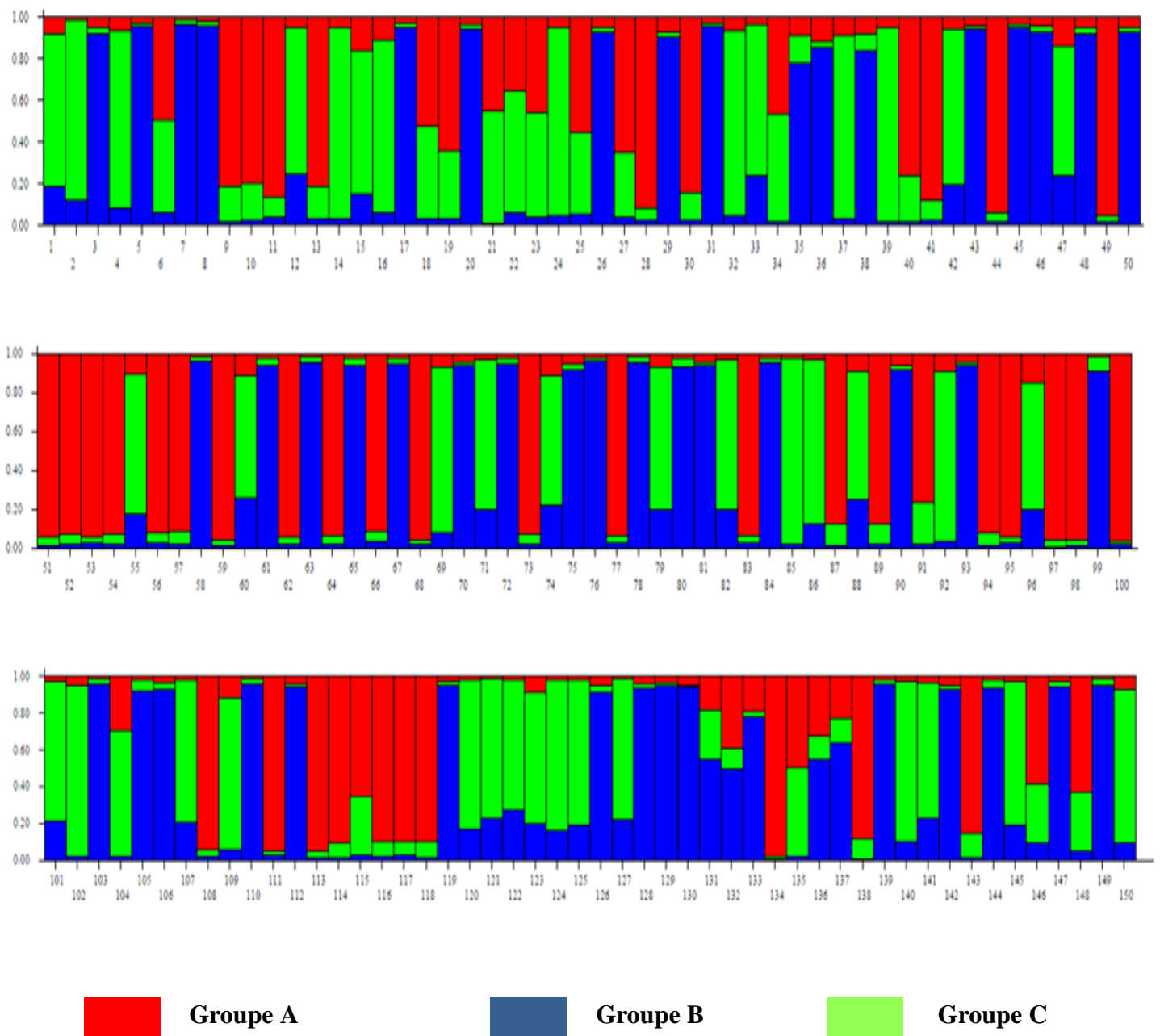


Figure 45 : Histogramme montrant la distribution des probabilités d'appartenance des simulées pour un nombre $K = 3$ de groupe génétique.

III-5-4- Structure de la population de *Simulium damnosum* s.l

Trois groupes sont identifiés au sein des populations étudiées. L'indique une différenciation génétique (F_{ST}) global calculé avec des bootstraps de 5 000 permutations sur les loci est égal à 0,152 avec un intervalle de confiance de [0,0530 - 0,112] à 95 %. Ceci indique une différenciation génétique (F_{ST}) modérée entre les différents groupes formés (Tableau XVII). Le groupe C est celui dont la valeur du F_{ST} est la plus élevée ($F_{ST} = 0,230$) supposant un faible flux génique entre les individus du groupe. Cependant, le groupe B présente une faible différenciation génétique ($F_{ST} = 0,006$), signe d'un important flux génique existant entre les individus du groupe.

Tableau XVII : Diversité génétique entre les trois groupes selon la méthode de Weir et Cockrham

	Effectifs	Ho	He	F_{ST}
Groupe A	196	0,406	0,656	0,161
Groupe B	105	0,329	0,755	0,066
Groupe C	136	0,264	0,578	0,230
Moyenne	437	0,333	0,663	0,152

III-6- Isolement par distance

La comparaison des distances géographiques et des distances génétiques renseigne sur une éventuelle isolation par distance (Tableau XVIII). Le test de Mantel effectué indique que les valeurs de la distance génétique et de la distance géographique sont corrélées ($R^2 = 0,903$, $P = 0,20$, permutation = 1000) (Figure 46). La valeur de 0,903 de R^2 obtenue signifie que 90,3 % de la distance génétique séparant les différentes populations dans cette étude, est expliquée par la distance géographique. Ce résultat suggère que les individus éloignés sont différents génétiquement que des individus proches géographiquement.

Tableau XVIII : Distances génétiques et distances géographiques entre populations Echantillonnées à Touba, Bouaflé et Soubré, Côte d'Ivoire.

Distance géographique (km)			
	Touba	Bouaflé	Soubré
Touba	0		
Bouaflé	254,51	0	
Soubré	300,63	162,92	0

Distance génétique de Nei			
	Touba	Bouaflé	Soubré
Touba	0		
Bouaflé	0.046	0	
Soubré	0.076	0.021	0

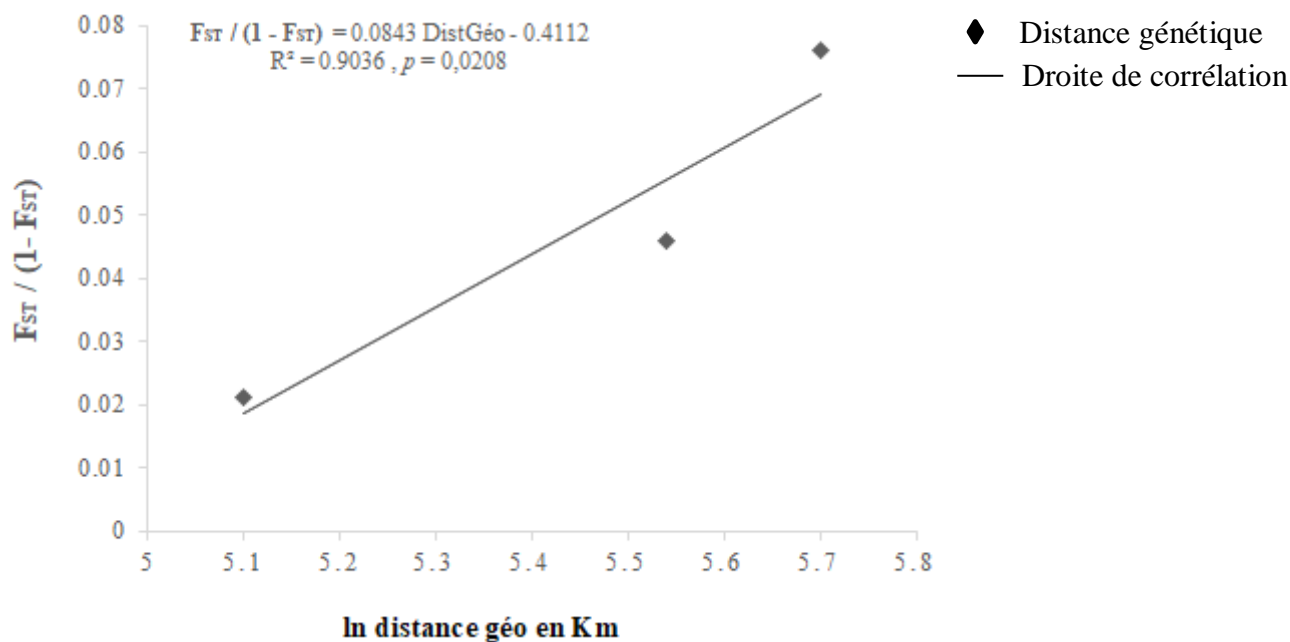


Figure 46 : Représentation de l'isolement par la distance entre populations

III-7- Estimation du nombre de migrants

Les valeurs de l'estimation du nombre de migrants indiquent un flux génique ($N_m = 6,24$) qui tend à réduire les différences génétiques entre les populations de *S. damnosum* (Tableau XIX). Les flux des gènes entre les paires des populations présentent une valeur relativement importante ($N_m = 9,75$) entre Touba et Bouaflé. Ce résultat implique que ces populations sont peu différenciées. Cependant, les flux géniques sont moins importants entre les populations de Soubré et Bouaflé ($N_m = 5,7$) et entre les populations de Touba et Soubré ($N_m = 3,27$). Ces valeurs de N_m traduisent que les migrants affectent la structure de la population.

Taleau XIX : Nombre de migrants entre les populations de simules de Touba, Soubré et Bouaflé, Côte d'Ivoire

Population 1	Population 2	F_{ST}	N_m
Touba	Bouaflé	0,025	9,75
Touba	Soubré	0,071	3,27
Soubré	Bouaflé	0,042	5,7
Moyenne		0,046	6,24

N_m : Nombre de migrants par génération, F_{ST} : Diversité génétique interpopulation

IV - DISCUSSION

Les simulies capturées au cours de cette étude appartiennent au complexe *Simulium damnosum*. Des résultats similaires révèlent l'existence de ce même complexe dans d'autres localités du pays, notamment au niveau de la station écologique de Taï et du site du barrage de Soubré (Traore *et al.*, 1980; Traore & Hebrard, 1981; Yapi *et al.*, 2014). L'identification spécifique indique que les espèces de type savane constituent l'essentiel des captures dans les sites de Bouaflé et de Touba. Quant au site de Soubré, les espèces de type forêt sont les seules rencontrées. Bouaflé est une zone située en bordure du « V Baoulé », avancée profonde vers le Sud, dans le massif forestier (Yapi *et al.*, 2014). Cependant le déboisement et la baisse de pluviométrie ces dernières décennies, entraînent une réduction progressive de l'étendue des régions boisées et humides méridionales (Yapi *et al.*, 2014). Cela provoque sans doute la progression de la savane et de l'aire de distribution des espèces de *S. damnosum* s.l. vectrices de l'onchocercose de savane vers le centre où elles se substituent, parfois massivement, et de plus en plus durablement, aux espèces autochtones des zones humides (Simaro *et al.*; 2019). Dans l'étude de Adjami *et al.*, (2004) portant sur l'identification des vecteurs et des parasites de l'onchocercose, menée dans le but de mieux comprendre les relations vecteurs / parasites dans une zone de transition forêt / savane en Côte d'Ivoire. Ils ont montré que les espèces forestières de *S. damnosum* s.l., bien que présentes en toutes saisons sur le haut Bandama et le moyen Bandama, sont en proportions très faibles, 2 % et 4 % respectivement en saison sèche et en saison humide. Ceci indique que les espèces de savane de *S. damnosum* s.l. sont prédominantes dans cette zone bioclimatique.

La présence d'espèces de types forêt et savane à Touba pourrait s'expliquer par le fait que cette zone borde le fleuve Sassandra et appartient au domaine guinéen mésophile. Il y a quelques décennies sur le bassin du haut Sassandra au Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire, les espèces forestières et savaniques étaient co-endémiques (Adjami, 2006). Les avancées et les dominances saisonnières alternent les unes et les autres : simulies de forêt en saison des pluies, simulies savaniques en saison sèche (Adjami, 2006). Le groupe de simulies *S. damnosum* ss, *S. sirbanum* et *O. volvulus* de savane, forme l'un des couples les plus efficaces dans la transmission de l'onchocercose (OMS, 2013c). Aussi, la pathogénicité des souches parasitaires de savane fait de la transmission dans ces faciès, un risque lorsque cette transmission est concentrée dans l'espace et dans le temps sur une population humaine réduite. Ainsi, le nombre élevé de simulies de type savane dans les zones de Bouaflé et de Touba, serait en cas de présence du parasite *O. volvulus*, un risque pouvant engendrer une éventuelle recrudescence de la maladie.

Les résultats du taux de piqûres journalières révèlent que *Simulium damnosum* s.l. est abondant le long des rives du fleuve Sassandra (Soubré), de la Marahoué (Bouaflé) et du Bagbé (Touba). Coulibaly (2007) a constaté que cette abondance occasionne un problème à cause de la nuisance des simulies, qui perturbe énormément les activités agricoles et halieutiques ayant pour conséquence une baisse de la productivité annuelle. Une telle abondance de *S. damnosum* s.l. le long des cours d'eau a été observée en République Centrafricaine par Enyong *et al.* (2006a), en prévision à l'évaluation de l'impact à long terme du traitement par l'ivermectine. Ils ont montré que la nuisance simulidienne fortement ressentie par les habitants des sites de Baoli (zone de savane guinéenne) et de Bolo (zone de forêt humide), tout au long de l'année, est essentiellement due aux femelles piqueuses de *S. damnosum* s.l. Cette étude a montré aussi que les femelles de *S. damnosum* piquent du lever du jour jusqu'au coucher du soleil, avec des variations au cours de la journée. Cette variation journalière du nombre de piqûres des simulies serait étroitement liée à la variation de la température au cours des périodes de la journée (Tekle *et al.*, 2012).

La variation journalière de la densité des piqûres des simulies, pourrait s'expliquer par la forte chaleur observée à certaines périodes de la journée dans les différentes localités étudiées (Simaro *et al.*, 2019). En effet, la température dans ces localités dépasse 30 °C à la mi-journée et en début de l'après-midi. Des résultats similaires ont été observés par Routledge *et al.* (2018). Ces auteurs ont constaté que les simulies piquent uniquement le jour et que leur activité cesse lorsqu'il pleut ou que la température est trop élevée. Selon Basáñez *et al.* (2006) et Coffeng *et al.* (2014), la température est le facteur limitant de l'activité des simulies. Par ailleurs, les taux de piqûres enregistrés dans cette étude sont supérieurs au seuil tolérable de 30 piqûres / homme / jour (Quillévéré, 1979). Ces nombres de piqûres reçues par homme / jour en saison sèche comme en saison pluvieuse, montrent que la nuisance est réelle et serait particulièrement intolérable dans la zone de Touba où les populations vivent en contact quasi permanent avec les simulies.

Les résultats de la parturité simulidienne indiquent que Touba présente le plus grand taux de parturité. Par contre, les taux de parturité les plus bas qui sont l'indice d'une population jeune de simulies, sont enregistrés à Soubré et Bouaflé. En se référant aux travaux de Traoré *et al.* (1997) réalisés dans un gîte productif de *S. damnosum* s.l. en Côte d'Ivoire, les proportions de femelles pares enregistrées dans les zones d'études, seraient un signe probable de la présence relativement proche de gîtes productifs de *S. damnosum*.

La variation de la parturité des femelles de simulies selon les zones étudiées pourrait s'expliquer par le fait que pendant la saison sèche en zone de savane, les variations du climat et de la végétation sont plus marquées, ce qui oblige les femelles à se confiner dans un biotope restreint. Cela ne permet que des déplacements réduits (Simaro *et al.*, 2019). Les réserves des femelles s'épuiseraient alors moins rapidement, ce qui permettrait une longévité plus grande dans la zone de savane. Par conséquent, l'âge physiologique moyen des simulies en zone de savane leur permettrait d'entretenir facilement le cycle du parasite.

Les résultats de la variation saisonnière de la nuisance simulidienne obtenus indiquent, une différence significative de la densité de piqûres simulidiennes entre la saison de pluies et la saison sèche. En effet, dès l'entame de la saison pluvieuse, les crues entraînent une augmentation de la végétation immergée constituant d'innombrables gîtes favorables au développement des stades pré-imaginaux de simulies, d'où un accroissement de la population simulidienne (Traoré *et al.*, 2006). En revanche, en saison sèche, le niveau des cours d'eau est très bas, entraînant la rareté des supports végétaux utilisés par les larves et les nymphes pour leur développement. Dans ces conditions, la population simulidienne n'a plus les mêmes possibilités de renouvellement. Les résultats sont similaires aux observations de Enyong *et al.*, 2006b. En effet, ces auteurs ont enregistré dans les zones de Kumba et Ngambé au Cameroun, des densités de femelles piqueuses de simulies variant de façon synchrone avec le niveau d'eau des fleuves Mungo et Sanaga. Cependant, ces observations restent souvent contradictoires. Le Berre (1966) et Yapi *et al.* (2014), ont constaté l'augmentation de la densité simulidienne en saison sèche, tandis que Eyong *et al.* (2006 b) et Traoré *et al.* (2006) l'ont notifiée en saison des pluies.

La densité simulidienne observée à Touba en saison des pluies est en moyenne, presque deux fois plus élevée que celle relevée à Soubré et Bouaflé. En effet, dans les zones de Soubré et Touba, les fleuves sont très accidentés par des masses rocheuses plus ou moins importantes, submergées ou émergées suivant les périodes de crue ou de décrue. Ces régions non navigables sont envahies par une végétation particulière de plantes. Fixés aux rochers par de puissantes racines, ces végétaux envahissent les rapides (Adéléké *et al.*, 2010). En période de crue, elles constituent par ailleurs les supports quasi exclusifs des larves et pupes de *Simulium damnosum* s.l (Hopkins *et al.*, 2005). Les variations de niveau d'eau, en période de crue, sont lentes et ne donnent pas lieu à la destruction subite des gîtes pré-imaginaux des larves et des nymphes par noyade (Simaro *et al.*, 2019). Selon Adéléké *et al.* (2010), l'existence de

ces énormes gîtes pré-imaginaux provoque en saison de pluies la présence d'un nombre considérable de simulies.

Dans la localité de Touba, les activités humaines sont presque exclusivement agricoles et les pratiques culturelles sont essentiellement saisonnières et plus intenses pendant la saison des pluies (AIP, 2015). A cette période, les simulies sont généralement plus abondantes (Simaro *et al.*, 2019). Cette abondance a pour conséquence une perturbation des activités agricoles et halieutiques des populations au contact avec les simulies (Coulibaly, 2007). Cependant, les faibles densités simulidiennes enregistrées en saison des pluies à Bouaflé par rapport à Soubré et Touba, pourraient s'expliquer par le fait que le fleuve Marahoué est un bassin versant très peu accidentés et denses. Les premières pluies occasionnent des variations importantes du niveau de l'eau de ces réseaux hydrographiques, variations qui noient les gîtes pré-imaginaux et ne permettent pas le développement de nombreuses populations larvaires (Hopkins *et al.*, 2005). En fin de saison des pluies, le niveau de l'eau se stabilise et la décrue se fait lentement, permettant ainsi aux larves de se développer sur les nombreux supports flottants.

Durant les captures réalisées sur trois saison principalement en saison sèche et en saison pluvieuse, aucune femelle infectée et infectieuse n'a été trouvée dans les trois sites. Ce qui n'est pas synonyme de transmission zéro sur un cycle d'observation plus prolongé. Par conséquent, l'absence d'infections pourrait s'expliquer par des stades immatures d'*Onchocerca volvulus* et le faible niveau de la charge microfilarienne dans les réservoirs humains. Les présents résultats sont similaires à ceux rapportés par Dumas *et al.* (1998) ; Adjami *et al.* (2004) et Adéléké *et al.* (2010) chez des simulies savaniques capturées respectivement au Mali, sur l'axe Sierra Leon-Guinée-Mali et au Sud du Nigéria.

Dans cette étude, les marqueurs microsatellites utilisés pour l'analyse de la diversité génétique des différentes populations de *Simulium damnosum* s.l., indiquent un fort polymorphisme à tous les loci. Le nombre moyen d'allèles varie entre 8 et 9 par locus. Ce nombre d'allèles est semblable à ceux obtenus par Dumas *et al.* (1998) pour différencier des individus de deux populations savaniques de *S. damnosum* s.l. du Mali, distant de 120 Km. Les rares études qui traitent de la diversité génétique des populations de *S. damnosum* s.l. par utilisation des marqueurs moléculaires indiquent, en général, une grande variabilité intraspécifique de celles-ci (Dumas *et al.*, 1998 ; Adjami *et al.*, 2004). Ce niveau élevé de variabilité génétique serait une caractéristique générale chez *S. damnosum* s.l. et indiquerait des facultés d'adaptation

des populations à des milieux hétérogènes. Ce polymorphisme serait entretenu par des transferts génétiques récurrents entre populations.

La comparaison de la diversité génétique des simulies de savane avec celle des simulies de forêt, montre une légère augmentation du nombre d'allèles en zone de forêt par rapport à la zone de savane. Ce résultat pourrait expliquer l'existence d'un gradient croissant de la richesse allélique de la zone de savane vers la zone de forêt (Shields, 2016). Les résultats de cette étude montrent également que chez *Simulium damnosum* s.l., les informations apportées par chacun des loci seraient statistiquement indépendantes les unes des autres. Les travaux de Acapovi *et al.* (2015), sur la différenciation et structuration génétique des populations de *Glossina palpalis palpalis* dans la zone d'Azaguié (Côte d'Ivoire), et de Akré *et al.* (2015), sur la structure génétique des populations d'*Anopheles nili* s.s., vecteurs du paludisme en milieu rural et périurbain de Côte d'Ivoire, corroborent les résultats de cette étude. Ils ont montré une grande diversité génétique des populations vectrices entre différentes régions géographiques.

L'absence d'association entre les allèles des loci chez *Simulium damnosum* s.l. pourrait s'expliquer, par la stratification de la population. Des résultats similaires indiquent que l'existence de deux groupes avec peu d'échanges génétiques peut être à l'origine d'un manque d'association entre deux caractères (Feingold, 1981). L'absence d'un déséquilibre de liaison chez *S. damnosum* s.l., pourrait également s'expliquer par la petite taille relative de l'échantillon. En effet, les travaux de Thompson *et al.* (1998) ont montré qu'il faut des échantillons relativement importants, dans le cas où le déséquilibre de liaison est négatif et les fréquences géniques faibles, ou quand le déséquilibre de liaison est positif et petit.

L'analyse de la différenciation génétique effectuée indique que la population de *S. damnosum* s.l., n'est pas en équilibre de Hardy-Weinberg avec un déficit d'hétérozygotes. Ce déséquilibre pourrait être expliqué par des accouplements non aléatoires tels que la consanguinité, une structuration de la population de simulies en groupes familiaux ou la présence d'allèles nuls (Dumas *et al.*, 1998). L'analyse des marqueurs microsatellites 7.4 et H3-4 révèle des échecs d'amplifications par PCR de certaines séquences d'ADN. Ces échecs d'amplification font, de la présence d'allèles nuls l'explication la plus plausible de ces déficits d'hétérozygotes. Le nombre d'échecs d'amplification rencontrés lors de cette étude, laissent entrevoir la nécessité de mieux contrôler les événements moléculaires et / ou écologiques ayant entraîné ces observations. En effet, au sein d'une même espèce, dans un même site géographique et pour des loci microsatellites qui sont connus pour leur homoplasie,

l'observation de telles divergences entre les individus est inattendue (Séré, 2015). Des résultats similaires ont été observés par Dumas *et al.* (1998). Ils ont démontré également l'existence d'allèles nuls lors de leurs études sur l'utilisation des marqueurs microsatellites pour différencier deux populations savaniques de *Simulium damnosum* s.l du Mali. Cependant, après correction, les déficits en hétérozygotes ont persisté chez les populations. Ainsi, le déficit d'hétérozygotes ne pourrait s'expliquer par la seule présence d'allèles nuls. La consanguinité pourrait également être la cause de ce déficit, mais il semble peu probable, puisque de tels effets devraient être évidents pour tous les loci (Dumas *et al.*, 1998).

La structuration de la population serait une autre cause du déficit d'hétérozygotes observé. Car des trois sites étudiés, deux sont dans l'aire sous contrôle de l'OCP, où les populations de simulies ont été régulièrement éliminées par des insecticides antisimulidiens. Si la recolonisation se produit, un déficit en hétérozygotes dû à la structure de la population peut s'ensuivre (Dumas *et al.*, 1998 ; Adjami *et al.*, 2004). Une autre explication pourrait être la présence d'espèces mixtes dans ces populations. En effet, il a été démontré par Estrada-Franco *et al.* (2012) qu'un excès d'homozygotes dans les populations d'anophèles est dû à des espèces mixtes du complexe *Anopheles quadrimaculatus*, conduisant à la description d'une nouvelle espèce. L'hypothèse des espèces mixtes pourrait être acceptée pour le site de Soubré puisque dans cette zone, les populations *S. damnosum* s.l présentent le plus important écart aux proportions de Hardy-Weinberg ($H_O = 0,346$ et $H_E = 0,71$). Sur les sites de Bouaflé et de Touba, *S. damnosum* s.l de types savane et forêt ont été trouvés au même rythme pendant la saison des pluies. Au cours de la saison sèche, les résultats indiquent une grande majorité de *S. damnosum* s.l de type savane. Cependant, le faible pourcentage d'échantillons appartenant à une espèce différente n'affecte pas de manière significative le déficit d'hétérozygotes (Dumas *et al.*, 1998). Le déficit en hétérozygotes avec le nombre élevé d'allèles par locus observé, indique une grande diversité génétique de la population.

L'étude effectuée par comparaison deux à deux des échantillons de *S. damnosum* s.l, montre l'existence d'une faible différenciation génétique entre ces populations. Ce résultat pourrait s'expliquer par les taux de migration élevés des simulies (Slatkin, 1985). Les résultats obtenus sont similaires à ceux observés par Adjami *et al.* (2004), chez les populations de *S. damnosum* s.l de l'axe Mali - Guinée - Sierra Leone. Leurs résultats indiquent que la migration est une caractéristique de *S. damnosum* s.l. En effet, la migration est favorisée par la mousson et l'harmattan, qui soufflent l'une contre l'autre tout au long de l'année, affectant

le climat et la dispersion des simulies. Selon Magor & Rosenberg (1980), Johnson *et al.* (1985), Bissan *et al.* (1995), les vents de la mousson prévalent pendant la saison des pluies et déplacent les simulies du Sud - Ouest au Nord – Est. Les vents de l'harmattan prévalent par contre pendant la saison sèche et déplacent les simulies du Nord - Est au Sud - Ouest.

La valeur du F_{ST} moyen faiblement significatif entre les populations de simulies de l'Ouest de la Côte d'Ivoire, serait due à une probable évolution des principales souches de *Simulium damnosum* s.l envahissantes dans ces localités. Cette évolution se serait produite au cours des migrations, qui auraient favorisé des échanges génétiques entre populations simulidiennes. Les résultats permettent de déduire que la capacité de dispersion élevée de *S. damnosum* s.l en relation avec des taux de migration élevés, favorisent un mélange génétique qui tend à homogénéiser les populations et à limiter leur différenciation

L'ensemble des quatre marqueurs microsatellites utilisés, ne montrent aucune trace de signature de sélection naturelle chez les populations *S. damnosum* s.l. Néanmoins, le locus H3-4 avec un indice de différenciation modérée, serait la région du génome susceptible d'être impliquée à long terme, dans une probable adaptation des simulies aux conditions environnementales très diverses à travers son aire de répartition très vaste. Tel est l'approche de Beaumont (2005) qui repose sur l'idée que dans une population, tous les loci du génome ont des F_{ST} comparables parce qu'ils partagent la même histoire démographique. Seuls les loci sous sélection ne sont pas soumis à cette règle, car la sélection naturelle modifie leur F_{ST} . Bien que les résultats actuels soient basés seulement sur les échantillons de deux populations de trois régions de la Côte d'Ivoire, *S. damnosum* s.l ferait partie des insectes dont la biologie et la dynamique des populations seraient déterminées par les facteurs environnementaux, qui représentent des forces potentielles de sélection agissant sur le génome à une large échelle géographique (Joost *et al.*, 2017). Les observations de Sinclair *et al.* (2013) renforcent cette hypothèse. Ses analyses ont montré qu'une forte température signale généralement un climat continental sévère qui semble exercer une pression de sélection sur des régions indépendantes du génome des insectes. Ces informations viennent confirmer des travaux qui démontrent que la tolérance au froid et à la sécheresse chez les insectes est contrôlée par des processus physiologiques similaires, avec en plus, l'avantage de pointer sur les régions génomiques impliquées (Sinclair *et al.*, 2013).

L'analyse factorielle des correspondances montre une structuration des simulies en deux zones géographiques distinctes. La répartition de ces mouches dépend essentiellement des

conditions environnementales, tels que le climat et la nature des gîtes larvaires (MelachioTanekou *et al.*, 2011). Toutefois, un examen de ces zones géographiques traduit l'existence de deux groupes de populations distinctes. Les simulies savaniques porteuses des larves cécitantes auraient accru dans chacune des zones contrairement aux simulies forestières. En effet, des études similaires indiquent que les maladies à transmission vectorielle prolifèrent quand les températures oscillent entre 20,6 et 26,1 °C (Mouchet & Carnevale, 2012). Ces résultats indiquent qu'avec le réchauffement climatique, si certaines régions d'Afrique deviendront trop chaudes, d'autres régions pourraient devenir favorables aux larves des insectes (Mouchet & Carnevale, 2012). Par ailleurs, le réchauffement climatique ainsi que les modifications environnementales, affectent la biologie et l'écologie des vecteurs donc créent de nouveaux écosystèmes favorisant surtout les vecteurs héliophiles (Andrew *et al.*, 2001). C'est le cas de *An. gambiae* S.S. qui prolifère en Afrique suite à la régression du couvert forestier.

Ces changements climatiques et environnementaux entraînent de nouveaux risques pour la Côte d'Ivoire puisque les zones anciennement défavorables aux vecteurs de l'onchocercose cécitante seraient maintenant idéales à la survie de cette espèce. Ce qui permet d'émettre l'hypothèse que les changements climatiques et environnementaux pourraient entraîner en Côte d'Ivoire, une nouvelle aire de répartition de l'onchocercose cécitante. De plus, les migrations des simulies sont liées soit à la disponibilité de la nourriture des adultes, soit au préférendum physico-chimique des eaux des gîtes des stades pré-imaginaux (Quillévééré, 1979). Par conséquent, le réchauffement climatique et les modifications environnementales auraient donc eu des effets sur les caractéristiques physico-chimiques des eaux des gîtes larvaires favorisant, une probable installation des simulies savaniques dans les deux zones géographiques.

Le dendrogramme montre l'existence de quatre groupes génétiques au sein des populations de simulies. Aucun groupe ne contient des simulies d'une seule population. Ces entités génétiques suggèreraient la coexistence d'écotypes ou de sous-espèces (De Meeûs *et al.*, 2015). Par ailleurs, au sein des groupes formés, les individus savaniques et forestiers semblent se regrouper par populations. En conséquence, les populations différenciées seraient en fait indirectement des unités populationnelles de trois grandes populations. La diffusion des simulies de forêt vers la zone de savane et inversement se serait accompagnée d'une modification de la base génétique de *S. damnosum* s.l (Dumas *et al.*, 1998).

La division de la population simulidienne en trois groupes proposée est soutenue par le paramètre génétique calculé (F_{ST} modéré de 0,152). Les populations de simulies largement réparties dans l'Ouest de la Côte d'Ivoire seraient peu interconnectées. En effet, les valeurs moyennes de F_{ST} suggèreraient l'existence de faible flux de gènes entre les populations, et donc une structuration génétique entre les trois groupes de populations simulidiennes. Cette structuration de la population a également été décrite au sein des populations de *Glossina palpalis gambiensis* le long de la rivière Mouhoun au Burkina Faso (Bouyer *et al.*, 2009). Les résultats de cette étude sont d'ailleurs corroborés par l'analyse en clusters qui montre que ces trois populations forment trois groupes génétiques différenciés. Les valeurs de F_{ST} au sein des trois groupes sont toutes significatives, ce qui indique que les groupes génétiques formés seraient en voie de structuration (White *et al.*, 2010). Par ailleurs, il serait envisageable que les populations échangent peu de gènes entre elles. En conséquence, Il serait donc probable que cet isolement par la distance ait un effet négatif sur d'autres paramètres, comme par exemple une diversité génétique amoindrie du fait de la dérive. Or, l'hétérozygotie attendue et l'hétérozygotie observée sont élevées. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les groupes maintiennent des effectifs assez importants, ce qui réduit la dérive génétique (Hellberg, 2009). Il est également envisageable que la dynamique des populations soit régie par un fonctionnement en métapopulations qui ont peu de connexions entre elles.

En Côte d'Ivoire, il y aurait une différenciation génétique entre les populations de simulies en fonction de la distance qui les séparent. Les populations de Soubré et Touba, les plus distantes géographiquement (300,63 km), sont aussi les plus différenciées génétiquement. Des résultats similaires ont été observés chez *Glossina palpalis gambiensis* le long de la rivière Mouhoun au Burkina Faso (Bouyer *et al.*, 2009). D'autres espèces montrent également des résultats similaires. C'est le cas des tiques du bétail *Rhipicephalus microplus*, en Nouvelle-Calédoni (De Meeûs *et al.*, 2010). Selon Séré (2015), les allèles nuls entraînent une surestimation de la pente de régression entre la distance géographique et le paramètre $F_{ST} / (1-F_{ST})$ qui conduisent à une augmentation de la variance de cette pente. Toutefois, cette perturbation n'altère pas la différence entre les distances génétiques. La distance géographique pourrait donc expliquer en partie les différences génétiques entre les différentes populations dans cette étude.

Les échantillons utilisés dans la présente étude proviennent de trois sites dans lesquels les piégeages ont été effectués. Ces trois sites ne sauraient à eux seuls représenter tous les pools géniques des populations de *S. damnosum* s.l. des trois faciès épidémiologiques étudiés.

Au regard des lacunes concernant cet échantillonnage, il me semble difficile de tirer une conclusion définitive sur la nature des divergences et de la structuration de la population d'étude. L'analyse des profils génétiques obtenus ne fait donc pas apparaître toute la diversité alléliques et la structuration génétique des populations de *Simulium damnosum* s.l. des trois faciès épidémiologiques étudiés. Par ailleurs, la structuration obtenue serait liée au faible nombre de marqueurs microsatellites utilisé au cours de cette étude. L'ajout d'autres marqueurs microsatellites permettrait de mieux apprécier les divergences observées. Une bonne répartition des sites d'échantillonnage à l'échelle spatiale des trois faciès étudiés, à travers l'inclusion de différents types d'habitat de chaque faciès aurait permis de cerner au mieux la structure génétique des populations sur l'ensemble de la zone d'étude. Cela renforce la nécessité de réaliser un échantillonnage exhaustif au niveau des différents faciès épidémiologique de *S. damnosum* s.l. en Côte d'Ivoire, afin de mieux apprécier les divergences évolutive et la structuration génétique des populations de ces différents faciès.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

CONCLUSION

L'onchocercose est un problème de santé et d'épanouissement des populations rurales. En effet, Il existe diverses formes de la maladie, liées à certaines différences notamment dans les capacités vectorielles des populations locales de simulies, dans l'abondance saisonnière du vecteur, ainsi que dans les variantes ou souches des simulies. Ces facteurs, associés aux influences environnementales, géographiques et démographiques, accentuent la complexité de de l'étude entomologique de la maladie dans ses différentes aires de répartition.

Au cours des prospections entomologiques, il ressort que la population simulidienne présente dans les zones d'études est constituée essentiellement d'espèces savaniques. Le pourcentage élevé des vecteurs de savane indique probablement un phénomène de «savanisation» de l'onchocercose en Côte d'Ivoire. Ce phénomène constitue un risque d'extension de l'onchocercose cécitante et nécessite une surveillance. Le taux élevé de piqûres des femelles de simulies constitue une gêne pour les populations humaines. L'âge physiologique élevé des simulies de Soubré, Bouaflé et Touba pourrait leur permettre d'entretenir le cycle du parasite. Toutefois, malgré leur âge physiologique élevé, en particulier à Touba, aucune simulie infectée par *Onchocerca volvulus* n'a été trouvée pendant l'étude. Ce qui n'est pas synonyme de transmission zéro sur un cycle d'observation plus prolongé. Les variations saisonnières modifient totalement la nuisance simulidienne entre les localités. Elles indiquent que la densité de piqûres en saison de pluies est deux fois plus importante qu'en saison sèche.

En outre, cette première étude sur la génétique des populations de *Simulium damnosum* s.l dans l'Ouest de la Côte d'Ivoire, montre un important déséquilibre dans la distribution des génotypes avec un déficit d'hétérozygotes au sein des populations des trois localités. Cette variabilité génétique indiquerait des facultés d'adaptation des populations simulidiennes à des milieux hétérogènes. Aussi, l'étude du déséquilibre de liaison à l'intérieur des populations indique que les informations apportées par chacun des loci seraient statistiquement indépendantes les unes des autres. Le locus H3-4 n'est pas systématiquement impliqué dans les déséquilibres observés de façon ponctuelle. Seules des contraintes spécifiques à ce locus seraient à l'origine des écarts observés. La présence d'allèles nuls est révélée à ce locus, qui contribue par la valeur de son F_{ST} à une différenciation génétique élevée entre les populations. Une évolution des principales souches de *S. damnosum* s.l envahissantes dans les localités s'est produite au cours des migrations.

Il apparait que dans l'Ouest de la Côte d'ivoire, la diversité génétique des populations de *S. damnosum* s.l qui existe est structurée en deux zones géographiques et répartie en trois

groupes génétiques. Cette structuration géographique serait liée aux changements climatiques et environnementaux observés dans cette partie du pays. Elle pourrait entraîner une nouvelle aire de répartition de l'onchocercose cécitante. Sur la base des résultats récents sur la génétique des vecteurs, la diffusion des simulies de forêt vers la zone de savane et inversement, se serait accompagnée d'une modification de la base génétique de *Simulium damnosum* s.l.

Enfin, ce travail s'est intéressé également à la différenciation génétique du vecteur et sa capacité vectorielle. Il est clair que cette différenciation génétique est modérée entre les différents groupes génétiques formés. Ce qui indique que d'importants flux génétiques ont lieu entre les différentes sous populations.

PERSPECTIVES

Pour son approfondissement, ce travail devrait être poursuivi dans les directions suivantes :

- ✚ faire des échantillonnages réguliers couvrant au moins une année pour apprécier les paramètres entomologiques des dynamiques de population et de nuisance.
- ✚ Poursuivre les travaux sur les repulsifs biologique.
- ✚ étendre l'étude de la surveillance entomologique à toutes les zones onchocerquiennes de la Côte d'Ivoire, afin d'améliorer les connaissances sur la compétence et les capacités vectorielles des vecteurs locaux.
- ✚ faire une évaluation entomologique par PCR d'O-150, afin de déterminer le niveau de stade infectieux des larves d'*O. volvulus* (stade L3) chez les simules femelles sur la base de l'amplification de sondes d'ADN O-150 spécifiques du parasite.
- ✚ poursuivre l'investigation chez l'homme par une évaluation sérologique par Ov 16, qui vise à déterminer la présence d'anticorps IgG4 contre l'antigène Ov 16 chez les enfants de moins de 10 ans afin de détecter l'exposition au parasite *O. volvulus*.
- ✚ poursuivre les recherches par l'évaluation de l'efficacité la biopsie cutanée par PCR, afin de différencier l'infection réelle d'une exposition au parasite dans certaines situations où plusieurs tests sont positifs.

Recommandations

- ✚ Mener des campagnes de lutte anti-vectorielle pour faire baisser la densité des simules et diminuer ainsi le contact homme-mouche ;
- ✚ Traiter les individus malades qui sont des réservoirs humains de la maladie pour une élimination certaine de l'onchocercose ;
- ✚ Mettre au point un vaccin contre l'onchocercose en mettant à contribution les structures de recherches qui travaillent à éradiquer totalement la maladie.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Acapovi-Yao G.L., Pokou N.D. & Zakpa L.G. (2015). Différenciation et structuration génétiques des populations de *glossina palpalis palpalis* dans la zone d'azaguié (côte d'Ivoire) à l'aide de marqueurs microsatellites. *Science de la vie, de la terre et agronomie. Revu comes*, 03 (01) : 2424-7235.
- Adeleke M.A, Chiedu F.M., Sammy Sam-Wobo O, Ganiyu O.O, Uwem F.E, Olaoluwa P.A, Toe L. (2010). Biting behaviour of *Simulium damnosum* complex and *Onchocerca volvulus* infection along the Osun River, Southwest Nigeria. *Parasites & Vectors*. 3:93.
- Adjami A.G., Ravel S., Toé L., Sanfo M.S., Bissam Y, Yaméogo L. & Cuny G. (2006). Spatiotemporal study of genetic variability of *simulium damnosum* s.l. on the axis Sierra Leone - Guinea - Mali. Thèse de doctorat, UFR des Sciences chimiques et biologies pour la santé, Université de Montpellier II, France : 118-126.
- Adjami A.G., Toe L., Bissan Y., Bugri S., Yameogo L., Kone M., Katholi C.R. & Unnasch T.R. (2004). The current status of onchocerciasis in the forest / savanna transition zone of Côte d'Ivoire. *Parasitology*. 128(Pt 4) : 407-14.
- Adler P.H., Cheke R.A. & Post R.J. (2010). Evolution, epidemiology, and population genetics of black flies Diptera: Simuliidae. *Infection, Genetics and Evolution*.10, 846–865.
- Adler P.H & Crosskey R.W. (2012). World Blackflies (Diptera: Simuliidae): A Comprehensive Revision of the Taxonomic and Geographical Inventory.<http://www.clemson.edu/cafls/departments/esps/biomia/pdfs/blackflyinventory>. Consulté le 09.03.2019).
- Adossi M.D. (1994) : Contribution à la lutte contre l'Onchocercose dans le contexte de l'après OCP. Art 2 : Evaluation des répulsifs contre *Simulium damnosum* s.l. Theobald 1903 (Diptera, Simuliidea). Mémoire DEA, N°43 (C.E.M.V Bouaké C.I. Fév. 1994): pp27 - 48.
- AIP (Agence Ivoirienne de presse). (2015). Monographie du département de Soubré. Publié le samedi 28 février. Consulté le 12 mars 2018.
- Akpoboua L.K. B. (1994) : L'importance et le rôle des épandages larvicides au sol dans l'aire du programme de lutte contre l'Onchocercose en Afrique de l'Ouest. *Bulletin de la société de pathologie Exotique et de ses filiales*, 87 : 278-282.

Références bibliographiques

- Akre M. A., Mahama T., Kengne P. (2015). Structure génétique des populations d'*anopheles nili* s.s vecteur du paludisme en milieu rural et périurbain de Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal*. 11 (6) : 1857 – 7881.
- Albiez E.J. (1985). Effects of a single complete nodulectomy on nodule burden and microfilarial density two years later. *TropenMed Parasitol*, 36 (2) : 17-20.
- Anderson J., Fuglsang H., Hamilton P.J. & Marshall T. F. (1975). The prognostic value of head nodules and microfilariae in the skin in relation to ocular onchocerciasis. *Tropenmed Parasitol*, 26 (5) : 191-5.
- Andrew K.G., Steve W.L., Ulisses E.C. & Jonathan A.P. (2001). Changement climatique et maladies à transmission vectorielle : une analyse régionale. *Bulletin of the World Health Organization.*, 78(9) : 1136-1147.
- Anonyme (1987). Comité d'expert de l'OMS de l'onchocercose. Troisième rapport. Série de rapports techniques, n° 752. Organisation mondiale de la santé, Genève.
- Anonyme (2002). Fiches techniques. OMS/OCP, n°388/01/VCU/ADM/, 15.2
- Anonyme (2002). Module de formation des entomologistes nationaux à la prise en charge et à la supervision des activités entomologiques de lutte contre l'onchocercose. OMS / OCP, Région de l'Afrique de l'Ouest, 389 / 01 / VCU / ADM / 15.2 : p 52
- Anonyme. (2008). Filarioses humaines. Support de cours. 2008-2009. [Internet] <http://umvf.uninantes.fr/parasitologie/enseignement/filarioses/site/html/cours.pdf>
Consulté le 20 janvier 2016.
- Anonyme. (2013). *Onchocerca volvulus*: Fiche technique santé-sécurité: agents pathogènes. 2011. [Internet] <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/onchocerca-fra.php#note2>. Consulté le 21 juin 2016.
- Anonyme (2015). Etudes monographiques et économiques des Districts de Côte d'Ivoire (PEMED-CI), District du Bas-Sassandra, Note de synthèse.
- Argaw H. (1999). Onchocerciasis among school children in Kafa, South West Ethiopia. *Ethiopian Med J*, 37(7) : 223-36.

Références bibliographiques

- Awise J.E. (1994). Molecular Markers, Natural History and Evolution. Eds Chapman & Hall.
- Awadzi K., Hero M., Opoku N.O., Addy E.T., Buttner D.W. & Ginger C. D. (1995). The chemotherapy of onchocerciasis XVIII. Aspects of treatment with suramin. *TropenMed Parasitol*, 46 : 19-26.
- Awadzi K., Hero M., Opoku O., Buttner D.W & Gilles H.M. (1991). The chemotherapy of onchocerciasis. XV. Studies with albendazole. *TropenMed Parasitol*, 42 : 356-60.
- Aziz M.A., Diallo S., Diop Mar I., Larivière M. & Porta M. (1982). Efficacy and tolerance of ivermectine in human onchocerciasis. *Lancet*, 2 : 171-173.
- Bain O. (1971). Transmission des filarioses. Limitation des passages des microfilaires ingérées vers l'hémocèle du vecteur; interpretation. *Ann Parasitol Hum Comp*, 46 : 613-31.
- Bain O. & Philippon B. (1970). Mécanisme de la traversée de la paroi stomacale par les microfilaires chez *Anopheles stephensi* et *Simulium damnosum*. Mise en évidence d'un séjour des microfilaires dans l'épithélium digestif. *Ann Parasitol Hum Comp*, 45 : 295-320.
- Baker R.H., Guillet P., Seketeli A., Poudiougou P., Boakye D., Wilson M.D. & Bissan Y. (1990). Progress in controlling the reinvasion of windborne vectors into the western area of the Onchocerciasis Control Programme in West Africa. *Philos Trans R Soc Land B Biol Sci*, 328 (1251) : 731-47.
- Barker R.H., Suebsaeng H., Rooney W., Alecrim G., Dourado H.V. & Wirth D.F. (1986). Specific DNA probe for the diagnosis of *Plasmodium falciparum* malaria. *Science*, 231 : 434-436.
- Barro T. (2015). Rapport de Stage : Morphologie et Electrophorèse pour identifier les espèces de *Simulium damnosum s.l.* OMS/OCP/Odienné.
- Balloux F. & Lugon-Moulin N. (2002). The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecula Ecologie*, 11 : 155-165.
- Banas S. & Collomb J. (2013). Atlas de parasitologie médicale 2007. [Internet] <http://www.parasitologie.uhp-nancy.fr/>. Consulté le 15 février 2016.

Références bibliographiques

- Bank H.V.D., Bank M.V.D & Wyk B.E.V. (2001). A review of the use of allozyme electrophoresis in plant systematics. *Biochem. Syst. Ecol*, 29 : 469-483.
- Basáñez, M. G., Boussinesq, M., Prod'hon, J., Frontado, H., Villamizar, N. J., Medley, G. F. & Anderson, R. M. (1994). Density-dependent processes in the transmission of human onchocerciasis: intensity of microfilariae in the skin and their uptake by the simuliid host. *Parasitology*, 108 : 115-27.
- Basáñez M.G., Pion S.D.S., Churcher T.S, Breitling L.P, Little M.P. & Boussinesq M. (2006). River blindness : a success story under threat? *PLoS Med*, 3 : e371.
- Beaumont M.A. (2005). Adaptation and speciation: what can FST tell us? , *Trends in Ecology & Evolution*, 20 : 435-440.
- Beaumont M.A. & Nichols R.A. (1996). Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 263 : 1619-1626.
- Bellec C. & Hébrard G. (1977). Captures d'adultes de simuliidae, en particulier de *Simulium damnosum*Theobald 1903, à l'aide de pièges d'interception : les pièges-vitres. Cah ORSTOM, *série Ent. Med. Parasitol*, 15(1) : 41-54.
- Belle E. & Barbujani G. (2017). Worldwide analysis of multiple microsatellites : language diversity has a detectable influence on DNA diversity. *Am. J. Phys. Anthropol*, 133 : 1137-1146.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N. & Bonhomme F. (2004). GENETIX 4. 05.2. *Logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations*. Montpellier, France : CNRS UMR 5000, Laboratoire Génome, Populations, Interactions, Université de Montpellier II, <http://www.univmontp2.fr/~genetix/genetix/constr.htm#download>.
- Bissan Y., Hougard J.M., Doucoure K., Akpoboua A., Back C., Poudiougou P., Sib A.P., Coulibaly Y., Guillet P., Sesay I. & Quillévéré. (1995). Drastic reduction of populations of *Simulium sirbanum* (Diptera: Simuliidae) in central Sierra Leone after 5 years of larviciding operations by the Onchocerciasis Control Programme. *Ann Trop Med Parasitol*. 89(1) : 63-72.

Références bibliographiques

- Blacklock D. B. (1926). The further development of *Onchocerca volvulus* Leuckart in *Simulium damnosum* Theobald. *Ann Trop Med Parasitol*, 20 : 203-18.
- Blacklock D. B. (1927). The insect transmission of *Onchocerca volvulus* Leuckard, 1893. The cause of Worm nodule in man in Africa. *Brit Med JI*, 1 : 129-133.
- Boatin B. A., Toé L., Alley E. S., Nagelkerke N. J., Borsboom G. & Habbema J. D. (2003). Detection of *Onchocerca volvulus* infection in low prevalence areas: a comparison of three diagnostic methods. *Parasitology*, 125 : 545-52.
- Borsboom G. J. J. M., Boatin B. A., Nagelkerke N. J. D., Agoua H., Akpoboua K. L. B., Alley E. S., Bissan Y., Renz A., Yameogo L., Remme J. H. F. & Habbema J. D. F. (2003). Impact of ivermectin on onchocerciasis transmission. Assessing the empirical evidence that repeated ivermectin mass treatments may lead to elimination/eradication in West-Africa. *Filaria Journal*, 2.
- Bositis C.M., Boussinesq M., Schneider D. & Chippaux J.P. (1994). The effects of onchocerciasis on growth in children aged 5-10 in central Cameroon. *Am J Trop Med Hyg*, 51 : 189.
- Bouyer J., Balenghien T., Ravel S., Koné N., Vial L., Sidibé I., Solano P. & De Meeûs T. (2009). Population sizes and dispersal pattern of tsetse flies : rolling on the river? *mol. Ecol.*, 18 : 2787-2797.
- Boussinesq M. (1997). L'onchocercose humaine en Afrique. *Med. Trop*, 57 : 389-400.
- Boussinesq M. & Hougard J. M. (1998). La lutte contre l'onchocercose en Afrique: aspects actuels. *Med Trop (Mars)*, 58 : 285-96.
- Brookfield J.F. (1996). A simple new method for estimating null allele frequency from heterozygote deficiency. *Molecular Ecology*, 5, 453-455.
- Budden F.H. (1963). Comparative study of ocular onchocerciasis in savannah and rain forest. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg*, 57 : 64-70.
- Buth D.G. & Murphy R.W. (1999). The use of isozyme characters in systematic studies. *Biochem. Syst. Ecol*, 27 : 117-129.

Références bibliographiques

- Bretting P.K. & Widrechner M.P. (1995). Genetic markers and plant genetic resource management. In : *Janick J. ed. Plant Breeding Reviews*, 13 : 11-86.
- Brieger W. R., Oshiname, F. O. & Ososanya, O. O. (1998). Stigma associated with onchocercal skin disease among those affected near the Ofiki and Oyan Rivers in western Nigeria. *Soc Sci Med*, 47, 841-52.
- Brumpt E. (1919). Une nouvelle filaire parasite de l'homme (*Onchocerca caecutiens* n.sp.). *Bull Soc Pathol Exot*, 12 : 464-73.
- Caballero y. C. E. & Barrera A. (1958). Helminthological studies in onchocerciasis regions of Mexico and Guatemala. v Onchocercal nodule in a monkey, *Ateles geoffroy vellerosus* Gray, in the state of Chiapas. *Rev Lat Am Microbiol*, 1 : 79-94.
- Carne B. & Esterre P. (2012). Filarioses. EMC - Maladies infectieuses, 9 : 1-19.
- Cavalli-Sforza L. & Edwards A. (1967). Phylogenetic analysis. models and estimation procedures. *American Journal of Human Genetics*, 19 : 233.
- Center for Disease Control and Prevention. (2013). Onchocerciasis. 2010. [Internet] <http://www.cdc.gov/parasites/onchocerciasis/> Consulté le 13 janvier 2016.
- Chapuis M.P. & Estoup A. (2007). Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Molecular Biology and Evolution*, 24, 621-631.
- Coffeng L.E., Stolk W.A., Hoerauf A., Habbema D., Bakker R. & Hopkins A.D. (2014). Elimination of African onchocerciasis: modeling the impact of increasing the frequency of ivermectin mass treatment. *PLoS One*, 9 : e115886.
- Coulibaly F. (2007). Evaluation de l'efficacité de la crème à base d'huile de palmiste (*Elaeis guineensis*) dans la lutte contre la nuisance simuliidienne sur le site agro-industriel de la Palmci-Boubo (Divo, Côte d'Ivoire). Mémoire de DEA d'entomologie Médicale et Vétérinaire. Université de Bouaké. 66 p.
- Coyer J.A., Olsen J.L., Stam W.T. (1997). Genetic variability and spatial separation in the sea kelp *Postelsia palmaeformis* (Phaeophyceae) as assessed with M13 fingerprints and RAPDS. *J. Phycol*, 33 : 561-568.

Références bibliographiques

- Crosskey R.W. (1990). The natural history of blackflies. *John Wiley & Sons Ed., Chichester, England*. 711 pp.
- Cotreau M.M., Warren S., Ryan J.L., Fleckenstein L., Vanapalli S.R., Brown K.R., Rock D., Chen C.Y. & Schwertschlag U. S. (2003). The antiparasitic moxidectin: safety, tolerability, and pharmacokinetics in humans. *J Clin Pharmacol*, 43 : 1108-15.
- Cupp E.W., Sauerbrey M., Richards F. (2011). Elimination of human onchocerciasis : history of progress and current feasibility using ivermectin (Mectizan®) monotherapy. *Acta Trop*. 120 : S100-8.
- Dabrowski M.J., Bornelov S., Kruczyk M., Baltzer N. & Komorowski J. (2015). True null allele detection in microsatellite loci : a comparison of methods, assessment of difficulties and survey of possible improvements. *Molecular Ecology Resources*, 15.
- Dadzie Y., Neira, M. & Hopkins, D. (2003). Final report of the Conference on the eradicability of Onchocerciasis. *Filaria Journal*, 2, 2.
- De Meeûs T., Bouyer J., Ravel S., Solano P. (2015). Ecotype Evolution in *Glossina palpalis* Subspecies, Major Vectors of Sleeping Sickness. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-16.
- De Meeûs T., Koffi B.B., Barré N., De Garine-Wichatitsky M., Chevillon C. (2010). Swift sympatric of a species of cattle tick to a new deer host in New-Caledonia. *Infection genetic evolution*, 10 : 976-983.
- De Meeûs T., Mc Coy K.D. (2009). La génétique des populations comme outil en épidémiologie. In: Guégan, J.F., Choisy, M. (Eds.), *Introduction à l'Epidémiologie Intégrative des Maladies Infectieuses et Parasitaires*, De Boek Université, Bruxelles, pp. 277-310.
- De Meeûs T., Lehmann L. & Balloux F. (2006). Molecular epidemiology of clonal diploids : A quick overview and a short DIY (do it yourself) notice. *Infection Genetic and Evolution*, 6, 163-170
- De Vienne D.M., Giraud T. & Martin O.C. (2007). A congruence index for testing topological similarity between trees. *Bioinformatics* 23 : 3119-3124.

- Diaz A. F. (1957). Notes and observations on onchocerciasis in Guatemala. *Bull World Health Organ*, 16 : 676-81.
- Dieringer D & Schlötterer C. (2003). Microsatellite analyser (MSA) : a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Mol. Ecol. Notes*, 3 : 167-169
- DOLF (Death to Onchocerciasis and Lymphatic Filariasis). (2010). Galerie d'images Onchocercose. [Internet] http://www.dolf.wustl.edu/?page_id=105# Consulté le 02 mars 2016.
- Dubois A. (1917). *Onchocerca volvulus* et éléphantiasis dans le Haut-Ouélé (Congo Belge). *Bull Soc Pathologie Exotique*, 10 : 365-71.
- Duerr H.P & Eichner M. (2010). Epidemiology and control of onchocerciasis: the threshold biting rate of savannah onchocerciasis in Africa. *Int J Parasitol*. 40 : 641-50.
- Duke B. O. L. (1968a). Experimental transmission of *Onchocerca volvulus* from man to chimpanzee. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 56 : 271.
- Duke B. O. L. (1968b). 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*, 62 : 95-106.
- Duke B. O. L. (1968c). Experiments on the chemoprophylaxis of *Onchocerca volvulus* infection. *Bull World Health Organ*, 39 : 179-86.
- Duke B. O. L. (1993). The population dynamics of *Onchocerca volvulus* in the human host. *Trop Med Parasitol*, 44 : 61-8.
- Duke B.O.L., Lewis D.J., Moore P.J. (1966). *Onchocerca - Simulium* complexes. I. Transmission of forest and Sudan savanna strains of *Onchocerca volvulus*, from Cameroun, by *Simulium damnosum* from various West African bioclimatic zones. *Ann. Trop. Med Parasitol*, 60 : 318-336.
- Dumas V., Herder S., Bebb A., Cadoux-Bernabé C., Bellec C. & Cuny G. (1998). Polymorphic microsatellites in *Simulium damnosum s.l* and their use for differentiating two savannah population : implication for epidemiological studies. *Genome*. 41(2) : 151-61.

Références bibliographiques

- Eberhard M. L., Dickerson J. W., Boyer A. E., Tsang V. C., Zea-Flores R., Walker E. M., Richards F.O., Zea-Flores G. & Strobert E. (1991). Experimental *Onchocerca volvulus* infections in mangabey monkeys (*Cercocebus atys*) compared to infections in humans and chimpanzees (*Pan troglodytes*). *Am J Trop Med Hyg*, 44 : 151-60.
- Eberhard M. L., Dickerson J.W., Tsang V.C., Walker E.M., Ottesen E.A., Chandrashekar R., Weil G.J., Trpis M., Strobert E. & Constantinidis I. (1995). *Onchocerca volvulus* : parasitologic and serologic responses in experimentally infected chimpanzees and mangabey monkeys. *Exp Parasitol*, 80 : 454-62.
- Edwards A., Hammonde H.A., Jin L., Caskey C.T & Chakraborty R. (1992). Genetic variation at five trimeric and tetrameric tandem repeat loci in four human population groups *Genomics* 12 : 241-253.
- Ellegren H. (2004). Microsatellites : simple sequences with complex evolution. *Nat. Rev. Genet*, 5 : 435-445.
- England P. R., Cornuet J. M., Berthier P., Tallmon D.A & Luikart G. (2006). Estimating effective population size from linkage disequilibrium : severe bias in small samples. *Conserv. Genet*, 7 : 303-308.
- Enyong P., Traoré S., Louango E., Fobi G., Noma M., Yaméogo L, Kayembé D. & Sékétéli A. (2006a). Programme africain de lutte contre l'onchocercose (apoc) : transmission d'*onchocerca volvulus* par *simulium damnosum* s. l. dans deux régions de la république centrafricaine, *Parasite*, 13 : 35-44
- Enyong P., Traoré S., M. Demanou M., Esum M., Fobi G, Noma M., Kayembé D & Sékétéli (2006b). Programme africain de lutte contre l'onchocercose (APOC) : intensité de la transmission d'*Onchocerca volvulus* par *Simulium squamosum* dans deux régions de la République du Cameroun. *Entomologie Médicale*, n° 2816.
- Erttmann K.D., Meredith S.E.O., Greene B.N. & Unnasch T.R. (1990). Isolation and characterisation of form specific DNA sequences of *O. volvulus*. *Acta Leidensia*, 1(2) : 253- 260.

Références bibliographiques

- Estrada-Franco J.G., Ma M., Lanzaro G.C., Gwadz R., Galvan-Sanchez C., Cespedes J.L., Vargas-Sagarnaga R & Rodriguez R. (2012). Genetic evidence of a species complex in *Anopheles pseudopunctipennis*. *Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana*, 69 : 219-236.
- Estoup A., Garnery L., Solignac M. & Cornuet J.M. (1995). Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera*) populations - Hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140 : 679-695.
- Estoup A. & Angers B. (1998). Microsatellites and minisatellites for molecular ecology: theoretical and empirical considerations. in *Advances in Molecular Ecology*. eds. : 55-86.
- Evanno G., Regnaut S. & Goudet J. (2005). Detecting the of clusters of individuals using the software STRUCTURE : simulation study. *Molecular Ecology*, 14 : 2611-2620.
- Feingold N. (1981). Phénomènes de liaisons et multilocus. In : *Génétique médicale acquisitions et perspectives*. Paris : Flammarion : 219- 27.
- Felsenstein J. (1989). Phylogeny inference package (version 3.2). *Cladistics* 5 : 164-166.
- Fernández-López L., Piñeiro E., Marcos R., Velázquez A & Surrallés J. (2004). Induction of instability of normal length trinucleotide repeats within human disease genes. *J. Med. Genet*, 41 : 3-9.
- Fetting C.T. (1998). Mectizan® (ivermectine, MSD) - 1987-1997. *Cahiers Santé*. 8 : 8.
- Foll M. & O. Gaggiotti O. (2006). Identifying the environmental factors that determine the genetic structure of populations. *Genetics*, 174 : 875-891.
- Fuglsang H, Anderson J & De C. M. T. F. (1976). The head nodule and ocular onchocerciasis in Africa. *Tropenmed Parasitol*, 27 : 355-64.
- Fuglsang H. & Anderson J. (1978). Further observations on the relationship between ocular onchocerciasis and the head nodule, and on the possible benefit of nodulectomy. *Br J Ophthalmol*, 62 : 445-9.

Références bibliographiques

- Gardon J., Boussinesq M., Kamgno J., Gardon-Wendel N., Demanga N & Duke B. O. L. (2002). Effects of standard and high doses of ivermectin on adult worms of *Onchocerca volvulus* : a randomised controlled trial. *Lancet*, 360 : 203-10.
- Gentilini M. & Dufflo B. (2000). Symptomatology of onchocercosis. [Internet] <http://sites-test.uclouvain.be/stages-hygtrop/gentilini/3330oncho/SYMPTO/INDEX.HTM>
Consulté le 26 Décembre 2015
- Goudet J. (2003). Fstat. A program to estimate and test gene diversities and fixation indices. Release 2.4.91.
- Guderian R. H., Proano R., Beck B. & Mackenzie C.D. (1987). The reduction in microfilariae Loads in the skin and eye after nodulectomy in Ecuadorian onchocerciasis. *Trop Med Parasitol*, 38 : 275-8.
- Guderian R.H. (1988). Effects of nodulectomy in onchocerciasis in Ecuador. *Trop Med Parasitol*, 39(4) : 356-7.
- Guderian R.H., Lovato R., Anselmi M., Mancero T. & Cooper P.J. (1997a). Onchocerciasis and reproductive health in Ecuador. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 91 : 315-7.
- Guderian R.H., Chico M.E. & Cooper P.J. (1997c). Observations on the formation of new onchocercal nodules in Ecuador. *Ann Trop Med Parasitol*, 91 : 437-41.
- Hardy G. H. (1908). Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 28 : 49-50.
- Hellberg M.E. (2009). Gene flow and isolation among populations of marine animal. *annual review of ecology, evolution, and systematique* 40 (1) : 291- 310.
- Hoerauf A., Volkmann L., Hamelmann C., Adjei O., Autenrieth I.B., Fleischer B. & Buttner D.W. (2000). Endosymbiotic bacteria in worms as targets for a novel chemotherapy in filariasis. *Lancet*, 355 : 1242-3.
- Hoerauf A., Mand S., Adjei O., Fleischer B. & Buttner D. W. (2001a). Depletion of wolbachia endobacteria in *Onchocerca volvulus* by doxycycline and microfilaridermia after ivermectin treatment. *Lancet*, 357 : 1415-6.

Références bibliographiques

- Hoerauf A.M. (2011). Onchocerciasis. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PR, editors. Tropical Infectious Diseases. Principles, pathogens and practice, 3rd edition. Edinburgh. Elsevier, 20 : 741–9.
- Hopkins D.R., Richards F.O. & Katarwa M. (2005). Editorial. Whither onchocerciasis control in Africa. *Am.J. Trop. Med. Hyg*, 72 : 1-2.
- Hougaard J.M. (2000). The vector control operations in the Onchocerciasis control programme in West Africa. Area-wide control of fruit flies and other insect pests. *Ed. K.H. Penerbit Universiti Sains Malaysia, Penang*, 117-121.
- Hougaard J.M., Alley E.S., Yameogo L., Dadzie K.Y. & Boatman B.A. (2001). Eliminating onchocerciasis after 14 years of vector control: a proved strategy. *J Infect Dis*, 184 : 497-503.
- INS (Institut national de la statistique). (2014). Recensement général de la population et de l'habitat de Côte d'Ivoire. Rapport de synthèse, volume des fiches monographiques des localités : région des lagunes. INS Abidjan, 50 p.
- IRIN. (2007). Côte d'Ivoire: Recrudescence de l'onchocercose dans les zones forestières. <https://reliefweb.int/report/c%3%B4te-divoire/c%3%B4te-divoire-recrudescence-de-lonchocercose-dans-les-zones-foresti%C3%A8res>.
- Jamonneau V., Koffi M., Solano P., Courtin D., Cuny G., Garcia A. (2004). Trypanosomose Humaine Africaine : Interaction parasite / hôte et diversité clinique. *AAEIP*. 32^{ème} Trim. N°180
- Jay F., Francois O. & Blum M.G.B. (2011). Predictions of Native American Population Structure Using Linguistic Covariates in a Hidden Regression Framework. *PLoS ONE*, 6(1) : 16227.
- Jennifer T. (2015). Identification, Image and Information for Insect, Spider and Their and klin for the Unité Stata and Canada. *Bugguide*. Photo#1132526.

- Johnson C.G., Walsh J.B., Clark S.J. & Perry J.N. (1985). The pattern and speed of displacement of females of *Simulium damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae) across the Onchocerciasis Control Programme of West of Africa in 1977 and 1978. *Bulletin of entomological Research*, 75 : 73-92.
- Joost S., Bonin A., Bruford M.W., Després L., Conord C., Erhardt G. & Taberlet P. (2017). A Spatial Analysis Method (SAM) to detect candidate loci for selection: towards a landscape genomics approach to adaptation, *Molecular Ecology*, 18 : 3955-3969.
- Josué F. (1991). Le déséquilibre de liaison. *medecine/sciences*, 7(2) : 161-8
- Kaboré J., De Meeus T., Macleod A., Ilboudo H., Capewell P., Camara M., Gaston Belem A.M., Bucheton B. & Jamonneau V., 2013. A protocol to improve genotyping of problematic microsatellite loci of *Trypanosoma brucei gambiense* from body fluids. *Infection Genetic and Evolution*, 20C, 171-176.
- Kale O. O. (1982). Controlled studies on the effect of nodulectomy on the concentration of microfilariae in the skin of patients exposed to continuing transmission of *Onchocerca volvulus* in the rain-forest zone of Western Nigeria. *Tropenmed Parasitol*, 33 : 40-2.
- Kashi Y., King D. & Soller M. (1997). Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. *Trends in Genetics* 13 : 74-78.
- Katararwa M.N. & Richards F.O. (2001). Community-directed health (CDH) workers enhance the performance and sustainability of CDH programmes : experience from ivermectin distribution in Uganda. *Ann Trop Med Parasitol*, 95 : 275-86.
- Keating J., Yukich J.O., Mollenkopf S & Tediosi F. (2014). Lymphatic filariasis and onchocerciasis prevention, treatment, and control costs across diverse settings: a systematic review. *Acta Trop*, 135 : 86-95.
- King D., Soller M & Kashi Y. (1997). Evolutionary tuning knobs. *Endeavour* 21: 36 - 40.
- Kouamé S.A.K. (2008). Mise en place et entretien des productions végétales et/ou animales: cas du cacao. Mémoire d'ingénieur. Institut National Polytechnique Felix Houphouët Boigny, Yamoussoukro, p.65.

Références bibliographiques

- Kouamé K.F. (2005). Simulation des écoulements dans les réservoirs fracturés : application au socle Archéen de Touba (Nord Ouest de la Côte d'Ivoire). *Act. Coll. Inter*, 05 : 39-46.
- Kumar S., Tamura K. & Nei M. (2004). Mega3 : integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics* 5 : 150.
- Langworthy N.G., Renz A., Mackenstedt U., Henkle-Duhrsen K., de Bronsvort M.B., Tanya V.N., Donnelly M.J & Trees A.J. (2000). Macroparasitocidal activity of tetracycline against the filarial nematode *Onchocerca ochengi*: elimination of *Wolbachia* precedes worm death and suggests a dependent relationship. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 267 : 1063.
- Le Berre R. (1966). Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires O.R.S.T.O.M.*, 17 : 204 .
- Le Berre R., Garms R., Davies J.B., Walsh J.F & Philippon B. (1979). Displacements of *Simulium damnosum* and strategy of control against onchocerciasis. *Phil. Trans. R. Lond*, 287 : 277-288.
- Lewis DJ. (1957). Aspects of the structure, biology and study of *Simulium damnosum*. *Tropenmed Parasitol*, 51: 340-58.
- Linda C.O., Monsuru A. A., Joseph C., Nate B. H., Derrick K. M., Winifred A.M & Henry Y.F. (2018). Poor genetic differentiation but clear cytoform divergence among cryptic species in *Simulium damnosum* complex (Diptera: Simuliidae). *Systematic Entomology*, 43 : 123-135.
- Lobos E. & Weiss N. (1985). Immunochemical comparison between worm extracts of *Onchocerca volvulus* from savanna and rain forest. *Parasite Immunol*, 7 : 333-47.
- Lok J.B., Pollack R.J., Cupp E.W., Bernardo M.J., Donnelly J. J. & Albiez E. J. (1984). Development of *onchocerca lienalis* and *O. volvulus* from the third to fourth larval stage in vitro. *Tropenmed Parasitol*, 35 : 209-11.
- Lu T.T. & Williams S.L. (1994). Genetic diversity and genetic structure in the brown alga *Halidrys dioica* (Fucales: Cystoseiraceae) in the southern California. *Mar. Biol.*, 121 : 363-371.

Références bibliographiques

- Magor J.I & Rosenberg I.J. (1980). Studies of winds and weather during migration of *Simulium damnosum* Theobald (Diptera : Simuliidae), the vector of onchocerciasis in west. *Africa Bull. ent. Res.*, 70 : 693-716.
- Mantel N. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research*, 27 : 209-220.
- Masiga K.D., Smith A.J., Hayes P., Bromidge T.J. & Gibson W.C. (1992). Sensitive detection of Trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *Int. J. Parasitol.*, 22 : 909-918.
- MelachioTanekou T.T., Simo G., Ravel S., de Meeus T., Causse S., Solano P., Lutumba P., Asonganyi T., Njiokou F (2011). Population genetics of *Glossina palpalis palpalis* from central African sleeping sickness foci. *Parasites and Vectors*, 4(1) : 140.
- Menozzi P., Piazza A. & L. Cavalli-Sforza L. (1978). Synthetic maps of human gene frequencies in europeans. *Science*, 201 : 786.
- Meredith S.E., Lando G., Gbakima A.A., Zimmerman P.A. & Unnasch T.R. (1991). *Onchocerca volvulus* : application of the polymerase chain reaction to identification and strain differentiation of the parasite. *Exp Parasitol*, 73 : 335-44.
- Molyneux D.H. (1995). Onchocerciasis control in West Africa: current status and future of the Onchocerciasis Control Programme. *Parasitology Today*, 11 : 399-402.
- Mouchet J. & Carnevale P. (2012). Impact des transformations de l'environnement sur les maladies à transmission vectorielle. *Cahiers Santé*, 7 : 263-269.
- Mullen K. & Prost A. (1983). Decreased Microfilarial Load and its Effect on the Calculation of Prevalence and the rate of False Negatives in the detection of Onchocerciasis. *International Journal of epidemiology*, 12 : 1.
- Myers P., Espinosa R., Parr C.S., Jones T., Hammond G.S. & Dewey T.A. (2013). The Animal Diversity Web. 2012. [Internet] <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/>. Consulté le 8 janvier 2016.
- Nei M., Tajima F. & Tatenno T. (1983). Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *Journal of Molecular Evolution*, 19 : 153-170.

Références bibliographiques

- Nei M. (1987). *Molecular evolutionary genetics*. New-York, *Columbia University Press*, USA.
- NCBI. (2013). Taxonomy browser. [Internet] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi>. Consulté le 12 janvier 2013.
- Oguttu D., Byamukama E., Katholi C.R., Habomugisha P., Nahabwe C, Ngabirano M, Hassan K.H., Lakwo T, Katarawa M, Richards F.O., Unnasch T.R. (2014). Serosurveillance to monitor onchocerciasis elimination : the Uganda experience. *Am J Tropenmed Parasitol Hyg*, 90(2) : 339-45.
- Ohou-Yao M.J.A., Ouattara L.Y., Yapo O.B. & Mambo V. (2017). Impacts of Environmental Management on the Quality of Traditional Well Water in the Soubré Region (South-West of Côte d'Ivoire). *Journal of Water Resource and Protection*, 9 : 1634-1644.
- Oklahoma State University. (2013). Black Flies or Buffalo Gnats. [Internet] <http://entopl.okstate.edu/ddd/insects/blackflies.htm>. Consulté le 31 août 2016.
- OMS. (2002). Module de formation des techniciens entomologiste à la prise en charge et à la supervision des activités entomologiques de lutte contre l'onchocercose. 338/01/VCU/ADM/ 15.2.
- OMS. (2009). Rapport de la 29^{ème} session du Comité Consultatif Technique (CCT), Ouagadougou. Dir / Coord /APOC/ Rap/ CCT 29, p.115.
- OMS. (2011). L'Onchocercose ou Cécité des rivières. *Article OMS/TDR/OCP*. 5 p.
- OMS. (2013a). L'onchocercose (la cécité des rivières) - Informations sur la maladie. [Internet] http://www.who.int/blindness/partnerships/onchocerciasis_disease_information/fr/ Consulté le 3 février 2016.
- OMS. (2013b). Programme d'élimination de l'onchocercose pour les Amériques (OEPA). [Internet] http://www.who.int/blindness/partnerships/onchocerciasis_oeпа/fr/index.html. Consulté le 12 septembre 2015.
- OMS. (2013c). Programme de lutte contre l'onchocercose en Afrique de l'Ouest (OCP). [Internet] http://www.who.int/blindness/partnerships/onchocerciasis_OCP/fr/ Consulté le 5 décembre 2015.

Références bibliographiques

- OMS. (2017). 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. ISBN 978-92-4-251001-0. Consulté le 07 mai 2019.
- OMS. (2018). Cycle de vie de *Onchocerca volvulus*. [Internet] <http://www.who.int/apoc/onchocerciasis/lifecycle/fr/>. Consulté le 12 Novembre 2018
- O'Neil J. (1875). On the présence of the a filaria in craw craw. *Lancet*, i : 265-266
- Opoku N.O & Bakajika D.K (2018). Single dose moxidectin versus ivermectin for *Onchocerca volvulus* infection in Ghana, Liberia, and the Democratic Republic of the Congo : a randomised, controlled, double-blind phase 3 trial. *Lancet*, 392 : 1207-1216.
- Ouzilleau F. (1913). L'éléphantiasis et les filarioses dans le M'Bomou (Haut-Oubangui). *Ann Hyg Med Colon*, 307-321 et 699.
- Ovazza M., Ovazza L. & Balay G. (1965). Étude des populations de *Simulium damnosum* Thoebad, 1903 (Diptera : Simulidae) en zones de gîtes non permanents. II. Variations saisonnières se produisant dans les populations adultes et préimaginales. Discussions des différentes hypothèses qui peuvent expliquer le maintien de l'espèce dans les régions sèches. *Bull Soc Pathologie Exotique*, 58 (6) : 1118-54.
- Ovuga E., Kipp W., Mungherera M. & Kasoro S. (1992). Epilepsy and retarded growth in a hyperendemic focus of onchocerciasis in rural western Uganda. *East Afr, Med, J*, 69 : 554-556.
- Patterson N., Price A.L. & Reich D. (2006). Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet*, 2 : e190.
- Perrier et al., (2006). Logiciel DARwin. (darwin .cirad.f)
- Philippon B. & Balay G. (1967). Etude de la biologie et de l'écologie de *S. damnosum* th. à la limite nord de son aire de répartition en Afrique occidentale. Conséquences épidémiologiques. *Médecine d'Afrique Noire*, 14 (10) : 507-509.

Références bibliographiques

- Philippon, B. & Bain, O. (1972). Transmission de l'onchocercose humaine en zone de savane d'Afrique Occidentales. Passage des microfilaires d'*Onchocerca volvulus* Leuck. dans l'hémocèle de la femelle de *Simulium damnosum* Th. *Cahier ORSTOM Ser Ent Med Parasitol*, 10 : 251-261.
- Philippon B. (1977). Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. *Tropicale et documentation de l' ORSTOM*, 63 : 308.
- Philippon B. & Séketéli A. (1998). Gènese de l'OCP et situation de l'onchocercose en Afrique occidentale avant les mesures de contrôle. *Cahiers santé*, 8 : 27-31.
- Picq J.J. (1983). Onchocercose de savane et de forêt en Afrique de l'Ouest et complexe pathogène de l'onchocercose. *Trav. Doc. Géog. Trop*, 48 : 243-252.
- Pion S. (2004). Contribution à la modélisation des filarioses à *Onchocerca volvulus* et à *Loa loa* en Afrique centrale. Thèse de Doctorat, Spécialité : Parasitologie, Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé, Université Paris XII-Val de Marne, France, 360p.
- Plaisier A. P., van Oortmarssen, G. J., Remme, J. & Habbema, J. D. (1991). The reproductive lifespan of *Onchocerca volvulus* in West African savanna. *Acta Trop*, 48 : 271-84.
- Powell W., Machray G.C. & Provan J. (1996). Polymorphism as revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*, 1 : 215-222.
- Pritchard J.K., Stephens M. & Donnelly P. (2000). Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics*, 155 (2) : 945-959.
- Prost A & Prod'hon J. (1978). Le diagnostic parasitologique de l'onchocercose. Revue critique des méthodes en usage. *Médecine Tropicale*, 38 : 519-32.
- Prost A. (1980). Le polymorphisme des onchocercoses humaines ouest africaines. *Annales de parasitologie*, 55(2) : 239-245.

Références bibliographiques

- Quillévére D. & Pendriez B. (1975). Etude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ouest. II. Répartition géographique des cytotypes en Côte d'Ivoire. Cahiers ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol, 8 (3) : 165-172
- Quillévére D., Sechan Y. & Pendriez B. (1977). Etude du complexe *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ouest. V- Identification morphologique des femelles en Côte d'Ivoire. *Tropical Medicine and Parasitology*, 28 : 244-253.
- Quillévére D. (1979). Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, biologiques et vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire. *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, 109 : 307.
- Ramachandran, S., O. Deshpande O., Roseman C. C., Rosenberg N. A. & Feldman M. W. (2005). Support from the relationship of genetic and geographic distance in human populations for a serial founder effect originating in Africa. *Proc. Natl. Academie Science*, 102 : 15942-15947.
- Ramos A., Mahowald A. & Jacobs Lorena M. (1994). Peritrophic matrix of the black fly *Simulium vittatum* : formation, structure, and analysis of its protein components. *J Exp Zool*, 268 : 269-81.
- Raymond M. (1996). Les marqueurs génétiques en biologie des populations: vers une écologie moléculaire. *Médecine Sciences*, 12 : 153-157.
- Reynolds J., Weir B. & Cockerham C. (1983). Estimation of the coancestry coefficient : basis for a short-term genetic distance. *Genetics*, 105 : 767.
- Razakandrainibe F. G., Durand P., Koella J. C., DE meeüs T., Rousset F., Ayala F. J & Renaud F. (2005). "Clonal" population structure of the malaria agent *Plasmodium falciparum* in high-infection regions. *Proc. Natl. Acad. Sci*, 102 : 17388-17393.
- Remme J., Ba O., Dadzie K.Y. & Karam M. (1986). A force-of-infection model for onchocerciasis and its applications in the epidemiological evaluation of the Onchocerciasis Control Programme in the volta river basin area. *Bulletin OMS*, 64 : 667-681.

Références bibliographiques

- Renz A. (1987). Studies on the dynamics of transmission of onchocerciasis in a Sudan-savanna area of North Cameroon II. Seasonal and diurnal changes in the biting densities and in the age-composition of the vector population. *Ann Tropenmed Parasitol*, 81 : 229-37.
- Renz A. & Wenk P. (1987). 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 TropenMed Parasitol*, 81 : 215-28.
- Routledge I., Walker M., Cheke A.R., Bhatt S., Nkot P.B., Matthews A.G., Baleguel D., Dobson H.M, Wiles T.H. & Maria-Gloria Basañez M.G. (2018). Modelling the impact of larviciding on the population dynamics and biting rates of *Simulium damnosum* (s.l.): implications for vector control as a complementary strategy for onchocerciasis elimination in Africa. *Parasites & Vectors*, 11 : 316.
- Rice W.R. (1989). Analysing tables of statistical test. *Evolution*, 43 : 223-225.
- Saitou N. & Nei M. (1987). The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4 (4) : 406-425.
- Schug M.D., Mackay T.F.C & Aquadro C.F. (1997). Low mutation rates microsattelite loci in *Drosophila melanogaster*. *Nature genetics*, 15 : 99-102.
- Séré M. (2015). Outils d'inférences en génétique des populations appliqués aux parasites et à leurs vecteurs: allèles mal amplifiés, clonalité, distances génétiques et isolement par la distance. Thèse de Doctorat, option : Développement rural, Université polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 56 p.
- Service MW, 1997. Mosquito (Diptera: Culicidae) dispersal- the long and short of it. *J Med Entomol*, 34(6) : 579-588.
- Shields.G.F. (2016). Determining causal factor of diversity in *Simulium arcticum* complexe of black flies (Diptera : simuliidea). *Trends entomology*, 12.
- Sinclair B.J., Vernon P., Klok C.J. & Chown S.L. (2013). Insects at low temperatures : An ecological perspective, *Trends in Ecology and Evolution*, 18 : 257–262.

Références bibliographiques

- Simaro S., Koffi M., Touré M., Yao P., Ahouty B & Tidou A.S. (2019). Capacité vectorielle et abondance des populations du complexe *Similium damnosum* dans trois faciès épidémiologiques à l'ouest de la Côte d'Ivoire. *Afrique SCIENCE*. 15(2) 16-23.
- Slatkin M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst*, 16 : 393-430.
- Slatkin M. (1995). A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, 139 : 457-462.
- Smouse P. E., Long J. C. & Sokal R. R., (1986). Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Système Biologie*, 35 : 627-632.
- Stingl P., Ross M., Gibson D.W., Ribas J. & Connor D. H. (1984). A diagnostic "patch test" for onchocerciasis using topical diethylcarbamazine. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 78 : 254-8.
- Surugue B. & Philippon B. (1986). Mara le regard du lion (film). Durée 30min. Bondy – Genève, ORSTOM - OMS.
- Surugue B., Boussinesq M., Kamgno J. & Philippon B. (2005). Les Passeurs de Lumière (film). Durée 19 min. Bondy - Paris, Mectizan Donation Program-IRD.
- Tautz D.D. (1993). Notes on the defunction and nomenclature of tandemly repetitive DNA sequences in : DNA Fingerprinting, *state of science*, 21-28.
- Tagboto S.K. & Townson S. (1996). *Onchocerca volvulus* and *O. lienalis*: the microfilaricidal activity of moxidectin compared with that of ivermectin in vitro and in vivo. *Ann Trop Med Parasitol*, 90 : 497-505.
- Taylor M.J. & Hoerauf A. (1999). Wolbachia bacteria of filarial nematodes. *Parasitol Today*, 15 : 437-42.
- Taylor M.J, Hoerauf A. & Bockarie M. (2010). Lymphatic filariasis and onchocerciasis. *Lancet*, 376 : 1175-1185.
- Thompson E.A., Deeb S. & Motulsky AG. (1998). The detection of linkage disequilibrium between closely linked markers : RPLPs at the A 1 -CIII apolipoprotein genes. *Am J Hum Genet*, 35 : 133-54.

Références bibliographiques

- Toé L., Adjami A.G., Boatin B.A., Back C., Alley E.S., Dembele N., Brika P.G., Pearlman E. & Unnasch T.R. (2000). Topical application of diethylcarbamazine to detect onchocerciasis recrudescence in west Africa. *Trans R Soc Tropenmed Parasitol Hyg*, 94 : 519-25.
- Tekle A.H., Elhassan E., Isiyaku S., Amazigo U.V, Bush S., Noma M (2012). Impact of longterm 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*, 5 : 28.
- Traore S., Philippon B & Hebrard G. (1980). Bioécologie et caractéristiques vectrices naturelles des femelles du groupe *S. soubrense* - *S. sanctipauli* sur le bas-Sassandra (site du barrage de Soubré). Doc Techn OCCGE, 75 : 56-80
- Traore S. & Hebrard G. (1981). Les capacités vectrices naturelles des femelles du complexe *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae) au niveau de la station écologique de Taï. Doc ronéo OCCGE/ORSTOM, 18 : 81.
- Traoré S. & Hébrard G. (1983). Bioécologie et caractéristique vectrices naturelles des femelles du groupe *S. soubrense* / *S. sanctipauli* en Côte d'Ivoire. Doc. ronéot. OCCGE-ORSTOM, 25(83) : 51.
- Traoré S., Diarrassouba S., Hébrard G. & Rivière F. (1997). Capacités vectrices naturelles du complexe *Simulium damnosum s. l.* (Diptera : Simuliidae) au niveau de la station écologique de Taï (Côte d'Ivoire). *Entomologie Médicale*. n°1821
- Traoré S., Enyong P., Mandiangu M.L., Kayembé D., Zouré H., Noma M. & Sékétéli A. (2006). Transmission d'*Onchocerca volvulus* par *Simulium damnosum s.l* à Inga, République démocratique du Congo. *Cahiers Santé*, 16 : 2
- Traoré M.A., Sarr M.D., Badji A., Bissan Y., Diawara L., Doumbia K. (2012). Proof-of-principle of onchocerciasis elimination with ivermectin treatment in endemic foci in Africa : final results of a study in Mali and Senegal. *PLoS Negl Trop Dis*, 6 : e1825.
- Trees A.J., Graham S.P., Renz A., Bianco A.E. & Tanya V. (2000). *Onchocerca ochengi* infections in cattle as a model for human onchocerciasis: recent developments. *Parasitology*, 120 : 133-42.

Références bibliographiques

- Twum-Danso N.A. (2003). *Loa loa* encephalopathy temporally related to ivermectin administration reported from onchocerciasis mass treatment programs from 1989 to 2001: implications for the future. *Filaria Journal*, 2 (1) : S7
- Van den Berghe L., Chardome M., & Peel E. (1964). The filarial parasites of the eastern gorilla in the Congo. *J Helminth*, 38 : 349-68.
- Walsh J.F., Davies J.B., Le Berre R. & Ganns R. (1978). Standardisation of criteria for assessing the effect *Simulium* control in onchocerciasis control programmes. *Trans. Roy. Soc. Tropenmed Parasitol. Hyg*, 72 : 675-676.
- Wang, S., Lewis C. M., Jakobsson M., Ramachandran S. & Ray N. (2007). Genetic variation and population structure in Native Americans. *PLoS Genet*, 3 : e185.
- Weber J.L & Wong C. (1993). Mutation of Human short tandem repeats. *Human molecular Genetics* 2 : 1123-1128.
- Weir B.S & Cockerham C.C. (1984). Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38: 1358-1370.
- Weinberg W. (1908). Über den Nachweis der Verebung beim Menschen. Jahresh. *Verein f. Vaterl. Naturk in Wüttemberg*. 64 : 368-382.
- White C., Selkoe K.A., Watson J., Siegel D.A., Zacherl D.C. & Toonen R.J. (2010). Ocean currents help explain population genetic structure. *Procedings of the royal Society B-Biological Sciences*. 277 (1688) : 1685-1694.
- Wright S. (1963). The genetical structure of populations. *Ann. Eugen.* 15: 323-354.
- Wright S. (1969). The Theory of Gene Frequencies, Evolution and the Genetics of Populations. Vol 2. *University of Chicago Press*, Chicago.
- Wright S. (1978). Evolution and the Genetics of Populations : Variability Within and Among Natural Populations, 4th Edition. *Universisty of Chicago Press*, Chicago.
- Yapi Y.G., Traore F.D., Coulibaly D. & Tia E. (2014). Etude contributive à la connaissance des populations de simulies dans la commune de Bouaflé, Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *International Journal Biological and Chemical Science*, 8(6) : 2540-2551.

ANNEXES

ANNEXE 1

Fiche de capture

Localité

Nom des captureurs

Lieu de capture

.....

.....

Date	Heures de capture	Nombre de capturées	Observations (vent-pluie)	Température
...../...../.....	7h - 8h			
	8h - 9h			
	9h - 10h			
	10h - 11h			
	11h - 12h			
..../...../.....	12h - 13h			
	13h - 14h			
	14h - 15h			
	15h - 16h			
	16h - 17h			
	17h - 18h			
	Total			

ANNEXE 2

FICHE DE DISSECTION

Localité.....

Cours d'eau

Site de capture

Date dissection

Nbr heures
de captureNbr S.D
capturees

No Disseq	Horaire de capture	Age	Nombre de larves			Repas de sang	Identification (Forêt / savane)	Remarque
			1 ^{er} stade	2 ^{ème} stade	3 ^{ème} stade			
01								
02								
03								
04								
05								
06								
07								
08								
09								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
TOTAUX	DISSEQUEES		PARE	INFECTEE	OBSERVATIONS			

ANNEXE 3

PROTOCOLE D'EXTRACTION D'ADN DE *Simulium Damnosum*

1. Préparer 30 tubes eppendorf de 1,5 ml comprenant 200 µl de tampon SLR.
2. Ajouter une mouche par tube.
3. Broyer manuellement les mouches en utilisant une tige adaptée (essuyer la tige après chaque broyage).
4. Mélanger rapidement au vortex pendant 30 secondes.
5. Centrifuger pendant 3 min à 6000 rpm.
6. Ajouter 100 µl de tampon de lyse et 5 µl de SDS (10%).
7. Mélanger au vortex pendant 30 secondes.
8. Ajouter 5 µl de protéinases K.
9. Incuber à 56°C pendant 1 heure au bain marie.
10. Ajouter 30 µl de NaCl saturé 6M.
11. Centrifuger pendant 30 minutes à 12 000 rpm pour durcir le culot.
12. Transférer 200 µl du surnageant dans un nouveau tube de 1,5ml.
13. Ajouter 200 µl d'éthanol 100 %.
14. Mélanger au vortex pour précipiter l'ADN.
15. Centrifuger pendant 30 min à 12000 rpm.
16. Eliminer le surnageant à l'aide d'une P1000.
17. Centrifuger sous vide pendant 20 minutes à 12 000 rpm.
18. Sécher le culot (capuchon ouvert) à la température ambiante, toute la nuit.
19. Reprendre le culot dans 75 µl de tampon TE e conserver à -20°C (cette solution d'ADN peut rester 18 à 24 heures à la température ambiante).

PUBLICATIONS

Capacité vectorielle et abondance des populations du complexe *Simulium damnosum* dans trois faciès épidémiologiques à l'ouest de la Côte d'Ivoire

Siriki SIMARO¹, Mathurin KOFFI^{2*}, Mahama TOURE², Patrick YAO³,
Bernardin AHOUTY⁴ et Abiba Sanogo TIDOU²

¹ Université Jean Lorougnon Guédé, UFR Agroforesterie, Laboratoire de Agrovalorisation,
BP150 Daloa, Côte d'Ivoire

² Université Jean Lorougnon Guédé, UFR Environnement, Laboratoire de Biodiversité et Gestion Durable des
Ecosystèmes Tropicaux, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

³ Université Félix Houphouët-Boigny, URF de Parasitologie et d'Ecologie Parasitaire, Laboratoire de Zoologie
et Biologie Animale, 22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

⁴ Université Félix Houphouët-Boigny, UFR Biosciences, Laboratoire de Génétique,
22 BP 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire

* Correspondance, courriel : m9koffi@yahoo.fr

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la dynamique des populations de *Simulium damnosum s.l.* dans trois localités à l'Ouest de la Côte d'Ivoire, d'estimer leur abondance et leur capacité vectorielle afin d'actualiser les données sur la maladie. Les villes de Soubré située au Sud-Ouest, de Bouaflé au Centre-Ouest et de Touba au Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire ont été les zones sélectionnées pour réaliser cette étude. La technique de capture des simules sur appât humain a été utilisée. Le captureur assis, a pour mission de récolter toutes les simules qui viennent se poser sur lui. Compte-tenu de la localisation basse des piqûres des femelles de *S. damnosum s.l.*, seules ses jambes ont été dénudées et exposées. Les données entomologiques recueillies révèlent que le taux moyen d'agressivité journalière est de 38 piqûres / homme / jour, 53 piqûres / homme / jour et de 159 piqûres / homme / jour respectivement dans les régions de Soubré, Bouaflé et Touba. Les simules capturées sont essentiellement des espèces de savane à Bouaflé et à Touba. Le taux de parturité est de 28 % à Soubré, 69,23 % à Bouaflé et 77,66 % à Touba. Du point de vue transmission, aucune simule femelle infectée ou infectieuse n'a été détectée pendant l'étude. Cependant, l'arrête des activités de suivi et d'évaluation contre l'onchocercose du fait de la crise socio-politique de Septembre 2002 ont conduit à la recolonisation des cours d'eau par les simules dont la nuisance serait difficilement supportable, par les populations dans certaines zones de la Côte d'Ivoire.

Mots-clés : *onchocercose, Simulium damnosum s.l., agressivité, abondance, transmission, Côte d'Ivoire.*

Abstract

Vector capacity and abundance of *Simulium damnosum* complex in three epidemiological facies in western Côte d'Ivoire

The objective of this study is to get information on the abundance, vector capacity and dynamics of the biting population of *Simulium damnosum s.l.* species in three locations in western Côte d'Ivoire. The cities of Soubré located in south-western, Bouaflé in the center-western and Touba in the north-western of Côte d'Ivoire were

selected for the surveys. The blackflies used in this study were collected at human bait. The capturer sitting, has for mission to collect all the blackflies which come take blood meal on him. Regarding the low localization of the bites of females *S. damnosum* s.l, only their legs were bare and exposed. The entomological results revealed vector biting rates at 38 bites / man / day in Soubré, 53 bites / man / day in Bouaflé and 159 bites / man / day in Touba. The blackflies collected in Bouaflé and Touba mainly belonged to savannah species. Parous rates were 28 % in Soubré, 69.2 3% in Bouaflé and 77.66 % in Touba. However, no infected or infective female was detected during the study period. We notice the stopped of monitoring and evaluation activities against onchocerciasis due to the socio-political crisis of September 2002, led to the recolonization of rivers by blackflies, of which the nuisance is difficult to bear, by the populations in certain areas of Côte d'Ivoire.

Keywords : *onchocerciasis, Simulium damnosum s.l, abundance, aggressivity, transmission, Côte d'Ivoire.*

1. Introduction

L'onchocercose ou cécité des rivières, est une maladie parasitaire causée par une filaire, *Onchocerca volvulus* [1]. Ce parasite est transmis à l'homme par la piqûre d'un moucheron, la similie qui est un diptère nématocère de la famille des Simuliidae. En Afrique de l'Ouest, ces vecteurs appartiennent tous au complexe d'espèces *simulium damnosum* s.l. [1]. A partir de 1968, consciente de l'ampleur épidémiologique et des répercussions socio-économiques de l'onchocercose, la communauté internationale a mobilisé des moyens humains, matériels, techniques et financiers pour lutter contre cette maladie [2]. Ainsi, de 1974 à 1990, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a mis en place un vaste programme de lutte contre l'onchocercose dénommé OCP [Onchocerciasis Control Program] qui couvrait en partie les pays endémiques de l'Afrique de l'Ouest (zones de savanes et secteurs préforestiers où la maladie était cécitante). Cette stratégie a permis de réduire la transmission de la maladie en-dessous du seuil correspondant à un risque majeur de santé publique, dans la majorité des régions traitées de tous les pays couverts (90 % des surfaces, représentant 1 million de km²) dont la Côte d'Ivoire [3, 4]. Après l'arrêt des activités de l'OCP en 2002, la Côte d'Ivoire n'a pu conduire régulièrement les activités de lutte du fait de la crise socio-politique qui venait de commencer en septembre 2002.

Ainsi, l'interruption des traitements larvicides employés dans la lutte antivectorielle a certainement exposé les populations riveraines à des piqûres de similies de plus en plus abondantes [5]. L'objectif de l'OCP n'ayant pas visé l'éradication du parasite et de son vecteur, des facteurs de risque de recrudescence de la maladie existent [6]. En Côte d'Ivoire, on note ainsi après l'arrêt du programme, une invasion de similies le long des cours d'eau dans la zone cotonnière sur la Léraba (Ouangolodougou) dans la région Nord, sur le Bou et le Foubou (Dikodougou) [7]. La recolonisation des cours d'eau par les similies connue sous le nom de ré-invasion constitue un véritable problème de santé pour les populations riveraines, du fait d'une possibilité de réémergence de l'onchocercose, et aussi d'une nuisance simulidienne difficilement supportable [4]. La possibilité et la nécessité pour chaque pays de mener des activités entomologiques allant dans le sens de la lutte, est la raison qui a suscité cette étude dans trois faciès épidémiologiques de l'Ouest de la Côte d'Ivoire, à savoir Soubré (sud-ouest), Bouaflé (Centre-Ouest) et Touba (Nord-Ouest). L'objectif générale de ce travail est d'évaluer la dynamique des populations de *Simulium damnosum* s.l, d'estimer leur abondance et leur capacité vectorielle afin d'actualiser les données sur l'onchocercose dans ces régions.

2. Matériel et méthodes

2-1. Zone d'étude

2-1-1. Site de Soubré

La Nawa (rive du fleuve Sassandra, 05° 47'12,6''N - 06° 36'0'' W) qui a servi de site de collecte des simulies, est située à 1km de la ville de Soubré, sur l'axe routier Soubré - San-Pedro en Côte d'Ivoire. Le département de Soubré qui n'a pas été traitée lors du programme de l'OCP, couvre une superficie de 4779 km² et sa population est estimée à 464 554 habitants [8]. Situé à 400 km d'Abidjan, ce département a un relief caractérisé par de vastes plateaux que surmontent par endroits quelques élévations constituées de collines dont le mont Trokoa. Le climat est de type subéquatorial, avec deux saisons pluvieuses d'avril - juin et septembre - novembre, et deux saisons sèches, de juillet - août et de décembre - mars [8]. Le département de Soubré a un réseau hydrographique constitué de cours d'eaux permanents dont le plus importants est le fleuve Sassandra. La végétation de ce département est marquée par la forêt verte, dense et humide qui fait place aujourd'hui à des lambeaux de forêts et d'immenses plantations de cultures pérennes traditionnelles ou industrielles [9].

2-1-2. Site de Bouaflé

Dans le département de Bouaflé, l'étude s'est déroulée sous le pont de Bouaflé (06° 58'50,2''N - 005° 45'17,9''W). Ce département est un ancien foyer de l'onchocercose couvert par l'OCP. Avec une population estimée à 236 312 habitants, le département de Bouaflé s'étend sur une superficie de 4 214,5 km² [8]. Le département de Bouaflé appartient au secteur préforestier et est caractérisé par deux saisons sèches (novembre - février et de juillet - Août) et deux saisons pluvieuses (mars - juin et septembre - octobre). La pluviométrie moyenne est de 1421 mm de pluies par an, avec une température moyenne autour de 25 °C [10]. Le département de Bouaflé est recouvert d'une mosaïque de forêt semi - décidue et de savane. Du fait des actions anthropiques, la structure originelle de la végétation a été fortement dégradée [11]. Le relief du département de Bouaflé est très peu accidenté, avec une altitude moyenne de 250 m. Le réseau hydrographique se compose essentiellement du fleuve Marahoué ou Bandama rouge qui se divise en plusieurs affluents délimités par des affleurements du socle rocheux ; leur nombre et positions varient selon les saisons [11, 10].

2-1-3. Site de Touba

Le Bagbê (08° 23'04,4''N - 007° 37'49,2''W) a également été un lieu de capture des simulies et est situé à 12 km de la ville de Touba dans le Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire. Touba est un ancien foyer de l'onchocercose couvert par l'OCP, et est situé à 710 Km d'Abidjan. Avec une population estimée à 186 648 habitants, le département de Touba s'étend sur une superficie de 8720 km² [8]. Ces régions Sud et Sud-Ouest, sont semi-forestières et font parties de la zone montagneuse de l'Ouest, tandis que le reste de sa superficie se caractérise par la savane arborée. Le climat est de type soudano - guinéen, avec, en décembre et en janvier, l'harmattan, un vent sec et poussiéreux venu du Sahara, qui abaisse considérablement la température. La pluviométrie annuelle oscille entre 1600 à 2000 mm avec une température moyenne annuelle de 30°C [8]. Le département de Touba est drainé par trois fleuves et quelques petits cours d'eau. Ces fleuves sont des affluents du Sassandra. On dénombre des ruisseaux et marais, qui forme avec le fleuve Sassandra et ses trois affluents (le Bagbé, le Bafing et le Boa) au niveau des rapides, des gîtes pré-imaginaux de simulies [10].

2-2. Capture des femelles de *S. damnosums. s.l.*

Le procédé classique de capture sur homme [3, 12] a été utilisé pour la collecte des simulies. Une équipe composée de deux personnes assurait la capture des simulies, chacun travaillant à tour de rôle pendant une

heure. La récolte journalière est séparée par tranches horaires, et les tubes de collecte des simulies, à raison d'une seule mouche par tube portaient une étiquette indiquant le lieu, la date et l'heure de capture. Les captures étaient effectuées de 7 heures du matin à 18 heures au soir et à raison de 3 jours par site.

2-3. Identification morphologique des femelles de simulies

L'identification morphologique a commencé par l'observation à la loupe binoculaire des éléments suivants : La couleur de l'antenne ; la couleur des soies de la touffe alaire et de l'arcus ; la couleur des soies du scutellum ; la couleur du premier article de la patte antérieure ou procoxa et la couleur des soies du 9^{ème} tergite abdominal [13]. L'examen combiné de ces paramètres a permis d'identifier les simulies femelles de savane (*S. damnosum s.s* et *S. sirbanum*), et femelles forestières (*S. yahense*, *S. sanctipauli*, *S. squamosum* et *S. soubrenses*).

2-4. Dissection des simulies

Les dissections ont été faites sous loupe binoculaire [14] et ont consisté à séparer les *S. damnosum s.l.* femelles n'ayant jamais pondu (nullipares) et femelles ayant effectué un ou plusieurs cycles gonotrophiques (femelles pares). Ces dernières étaient dilacérées dans une goutte d'eau physiologique à 4,5 %, puis minutieusement examinées pour la recherche des larves d'*O. volvulus* dont le nombre et les stades évolutifs permettent d'établir les taux d'infestations et les charges parasitaires des femelles du complexe *S. damnosum*.

3. Résultats et discussion

3-1. Identification spécifique des simulies piqueuses

L'identification morphologique des simulies capturées à Soubré indique qu'elles appartiennent aux groupes d'espèces dites de forêt (*S. squamosum*, *S. sanctipauli*, *S. soubrense*). Cependant, deux groupes d'espèces de simulies pullulent à Bouaflé et à Touba. Il s'agit des espèces du groupe de savane (*S. damnosum s.s*, et *S. sirbanum*) et de forêt (*S. squamosum*, *S. sanctipauli*, *S. soubrense*). Au total, 752 simulies ont été capturées en 9 jours, soit 626 savaniques et 126 forestières (**Tableau 1**). 615 ont été disséquées, soit un taux de 81,48 % de dissection.

Tableau 1 : Résultats des captures de *Simulium damnosum s.l.* à Soubré, Bouaflé et Touba (Côte d'Ivoire)

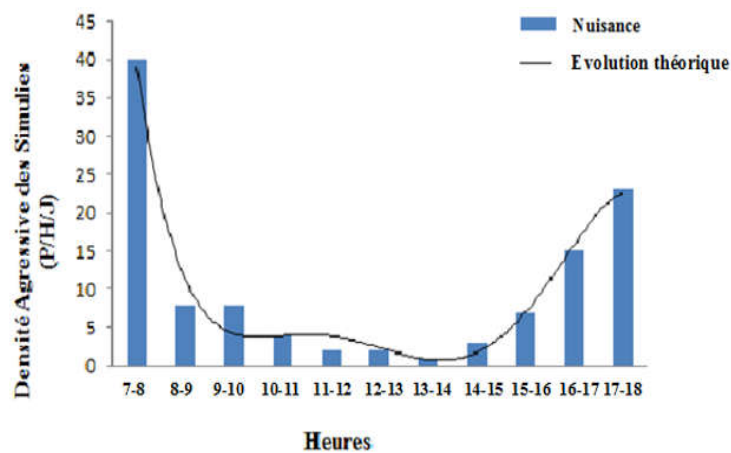
	Localités			Total
	Soubré	Bouaflé	Touba	
Nombre de jours de captures	3	3	3	9
Nombre de simulies capturées	115	160	477	752
Nombre de simulies savaniques	0	155	471	626
Nombre de simulies forestières	115	5	6	126

La totalité des simulies identifiées à Soubré, à Bouaflé et à Touba appartiennent au complexe *S. damnosum* tel que rapporté par des travaux antérieurs [15] dans d'autres localités du pays, notamment au niveau de la station écologique de Taï et du site du barrage de Soubré. Classiquement, au plan cytotoxonomique, les espèces connues de Côte d'Ivoire se répartissent en trois paires : *S. damnosum s.s*- *S. sirbanum*; *S. soubrense* - *S. sanctipauli* et *S. yahense*- *S. squamosum*. Les biotopes de la première paire sont classiquement plus arides et ouverts (et donc plus septentrionaux en Côte d'Ivoire) que ceux des deux autres paires. La paire *S. soubrense* - *S. sanctipauli* est inféodée aux grandes rivières et aux fleuves tandis que *S. yahense* - *S. squamosum* est observée dans les petits cours d'eau accidentés. L'identification spécifique indique que les espèces de type savane constituent l'essentiel des captures dans les sites de Bouaflé et de Touba. Quant

au site de Soubré, les espèces de type forêt sont les seules rencontrées. En effet, Bouaflé est une zone située en bordure du « V Baoulé », avancée profonde vers le sud, dans le massif forestier. Cependant, le déboisement et la baisse de pluviométrie ces dernières décennies, entraînent la réduction progressive de l'étendue des régions boisées et humides méridionales [16]. Cela provoque sans doute la progression de l'aire de distribution des espèces de *S. damnosum*, vectrices de l'onchocercose de savane vers le sud où elles se substituent, parfois massivement, et de plus en plus durablement, aux espèces autochtones des zones humides, plus sédentaire et associées à l'onchocercose de type forestier. La présence d'espèces de type forêt et savane à Touba serait associée au fait que cette zone borde le fleuve Sassandra et appartient au domaine guinéen mésophile. Il y a quelques décennies, sur le bassin du haut Sassandra au nord-ouest du pays, les espèces forestières et savaniques étaient co-endémiques, avec des avancées et des dominances saisonnières alternées les unes des autres : simules de forêt en saison des pluies, simules savaniques en saison sèche [17]. Il est connu que le groupe de simules *S. damnosum*, *S. sirbanum* et *O. volvulus* de savane, forme l'un des couples les plus efficaces dans la transmission de l'onchocercose [5]. Aussi, la pathogénicité des souches parasitaires de savane fait de la transmission dans ce faciès, un risque lorsque cette transmission est concentrée dans l'espace et dans le temps sur une population humaine réduite. Ainsi, le nombre élevé de simules de type savane dans les zones de Bouaflé et de Touba, serait en cas de présence du parasite *O. volvulus*, un risque d'engendrer une éventuelle recrudescence de la maladie.

3-2. Taux d'agressivité journalière

Le taux moyen d'agressivité journalière est de 38 piqûres / homme / jour à Soubré, 53 piqûres / homme / jour à Bouaflé, et 159 piqûres / homme / jour à Touba. Les variations horaires journalières de la densité des piqûres des simules montrent deux pics à Soubré et à Bouaflé (*Figure 1a et 1b*); Un pic matinal et l'autre l'après-midi. A partir de 15 heures, l'on assiste dans ces deux zones, à une augmentation du taux des piqûres qui culmine entre 17 et 18 heures. Par contre, à Touba, les variations horaires journalières du taux de piqûre des simules montrent un seul pic. A partir de 12 heures le taux des piqûres augmente et culmine entre 15 et 16 heures (*Figure 1c*). Cependant, aucune piqûre n'a été enregistrée entre 7 et 8 heures.



(a)

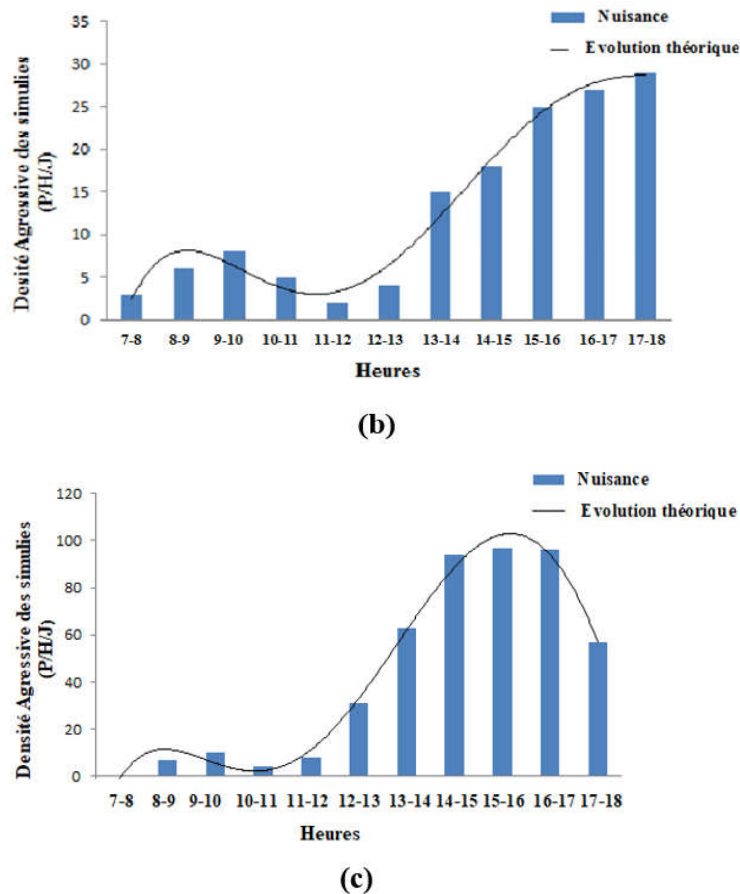


Figure 1 : Variation journalière de l'agressivité des femelles de simulies à Soubré (a), Bouaflé (b) et Touba (c) en Côte d'Ivoire

Les résultats du taux d'agressivité journalière révèlent que *S. damnosum s.l.* est abondant le long des rives du fleuveassandra (Soubré), de la Marahoué (Bouaflé) et du Bagbé (Touba). Cette abondance occasionne un véritable problème à cause de l'agressivité des simulies, qui perturbent énormément les activités agricoles et halieutiques ayant pour conséquence une baisse de la productivité annuelle [18]. En effet les femelles de *S. damnosum* piquent du lever du jour jusqu'au coucher du soleil, avec des variations au cours de la journée. Ces résultats ont une similitude avec les observations de [19] et démontrent ainsi que les rythmes journaliers d'activités des simulies sont étroitement liés aux variations de luminosité, de température et d'hygrométrie. La variation journalière de la densité des piqûres des simulies, serait due à la forte chaleur observée à certaines périodes de la journée dans les localités du site d'étude. La température dans ces localités dépasse 30°C à la mi-journée et en début de l'après-midi. Les résultats sont en accord avec ceux de [15], qui a constaté que les simulies piquent uniquement le jour et que leur activité cesse lorsqu'il pleut ou que la température est trop élevée. D'autres auteurs [20, 21] ont indiqué que la température est le facteur limitant de l'activité des simulies. Les taux de piqûres enregistrés sont supérieurs au seuil tolérable de 30 piqûres/homme/jour [22]. Ces nombres de piqûres reçues par homme/jour en saison sèche, montre que la nuisance est réelle, et elle serait particulièrement intolérable dans la zone de Touba où les populations vivent en contact quasi permanent avec les simulies.

3-3. Age physiologique

Sur 615 simulies disséquées, 417 étaient pares pour l'ensemble des sites de l'étude (**Tableau 2**). Les résultats de l'analyse de la parturité révèlent des valeurs statistiquement différentes d'une localité à une autre ($p < 2,2.10^{-2}$). Touba présente le plus grand taux de parturité simulidienne.

Tableau 2 : Parturité des femelles de *Simulium damnosum* capturées dans les zones d'études

Localité	Effectif de simulies disséquées	Pares (Parturité en %)	Test χ^2
Soubré	100	28 (28)	$P < 2,2.10^{-2}$
Bouaflé	130	90 (69,23)	
Touba	385	299 (77,66)	

Les taux de parturité les plus élevés (indice d'une population vieille de simulies) sont rencontrés à Touba. Par contre, le taux de parturité le plus bas (indice d'une population jeune de simulies), est enregistré à Soubré. Nous référant aux travaux de [23] dans un gîte productif de *S. damnosum s.l.* en Côte d'Ivoire, il apparaît que les proportions de femelles pares dans les zones de Soubré et de Bouaflé, seraient un signe probable de la présence relativement proche de gîte productif de *S. damnosum*. La variation géographique de la longévité moyenne des femelles de simulie selon les zones, pourrait s'expliquer par le fait qu'en zone de savane en période sèche, l'environnement botanique et météorologique oblige les femelles à se confiner dans un biotope restreint ; qui ne permet que des déplacements réduits. Les réserves des femelles s'épuiseraient alors moins rapidement, ce qui permettrait une longévité plus grande. L'âge physiologique moyen des simulies en zone de savane leur permettraient d'entretenir facilement le cycle du parasite.

3-4. Taux d'infestation

Durant notre étude, aucune simulie femelle n'a été retrouvée hébergeant des parasites. Aucune femelle infectée ou infectieuse n'a été trouvée dans les trois sites. Ce qui n'est pas synonyme de zéro transmission sur un cycle d'observation plus prolongé. On peut présumer de l'absence d'infections par des stades immatures d'*O. volvulus*.

4. Conclusion

La population simulidienne qui fréquente les régions investiguées est constituée essentiellement des simulies du groupe de savane. Toutefois, on y rencontre à Soubré les espèces du groupe de forêt. Les taux élevés de piqûres journalières des simulies constituent une gêne pour les populations de ces régions. L'âge physiologique des simulies dans les localités de Touba et de Bouaflé pourrait leur permettre d'entretenir le cycle du parasite bien qu'aucune mouche n'ait été trouvée infestée. Par ailleurs, le fort taux de piqûre simulidienne constituée en majorité d'espèces savaniques, connues dans la transmission de l'onchocercose grave (oculaire) nécessite une surveillance.

Références

- [1] - S. TRAORE, P. ENYONG, M. L. MANDIANGU, D. KAYEMBE, H. ZOURE, M. NOMA and A. SEKETELI, "Transmission d'*Onchocerca volvulus* par *Simulium damnosum s.l.* à Inga, République démocratique du Congo", Cahiers Santé, Vol. 16, N°2 (2006)
- [2] - J. M. HOUGARD, E. S. ALLEY, L. YAMEOGO, K. Y. DADZIE and B. A. BOATIN, "Eliminating onchocerciasis after 14 year of vector : a proved strategy", *J Infect Dis*, (04) (2001) 497 - 503
- [3] - OMS / APOC, "Rapport de la 29^{ème} session du Comité Consultatif Technique (CCT)", Ouagadougou. Dir / Coord /APOC/ Rap/ CCT 29, (2009)
- [4] - SIGHTSAVERS, "Elimination de l'Onchocercose : plan d'action accéléré dans 24 pays recevant le soutien de Sightsavers 2011-2021", 10 (2011) 207 - 544

- [5] - OMS, "Module de formation des techniciens entomologiste à la prise en charge et à la supervision des activités entomologiques de lutte contre l'onchocercose". 338/01/ VCU/ADM/15.2, (2002)
- [6] - A. G. ADJAMI, " Contribution à la surveillance entomologique et épidémiologique de l'onchocercose en Afrique de l'Ouest ", Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, France, (2006) 98
- [7] - OMS, "L'Onchocercose ou Cécité des rivières". Article OMS/TDR/OCP, (2011)
- [8] - INS (Institut national de la statistique), "Recensement général de la population et de l'habitat de Côte d'Ivoire", Rapport de synthèse, volume des fiches monographiques des localités : région des lagunes et du bafin, Abidjan, (2014)
- [9] - AIP (Agence Ivoirienne de presse), "Monographie du département de Soubré", Publié le samedi 28 février (2015)
- [10] - S. A. K. KOUAME, "Mise en place et entretien des productions végétales et / ou animales: cas du cacao", Mémoire d'ingénieur, Institut National Polytechnique Felix Houphouet Boigny, Yamoussoukro, (2008)
- [11] - Y. G. YAPI, F. D. TRAORE, D. COULIBALY and E. TIA, "Etude contributive à la connaissance des populations de simulies dans la commune de Bouaflé, Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire", *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 8 (6) (2014) 2540 - 2551
- [12] - F. COULIBALY, "Evaluation de l'efficacité de la crème à base d'huile de palmiste (*Elaeis guineensis*) dans la lutte contre la nuisance simulidienne sur le site agro-industriel de la Palmci-Boubo (Divo, Côte d'Ivoire)". Mémoire de DEA d'entomologie Médicale et Vétérinaire. Université de Bouaké, (2007) 66 p.
- [13] - AGENCE DE LA SANTE PUBLIQUE DU CANADA, "Onchocerca volvulus, Fiche technique santé-sécurité: agents pathogènes", (2013). [Internet] <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/onchocerca-fra.php#note2>. Consulté le 21 juin 2018
- [14] - OKLAHOMA STATE UNIVERSITY, "Black Flies or Buffalo Gnats", (2013). [Internet] <http://entopl.okstate.edu/ddd/insects/blackflies.htm>. Consulté le 31 août 2018
- [15] - OMS, "Cycle de vie de *Onchocerca volvulus*", (2018). [Internet] <http://www.who.int/apoc/onchocerciasis/lifecycle/fr/>. Consulté le 12 Novembre 2018
- [16] - S. PION, "Contribution à la modélisation des filarioses à *Onchocerca volvulus* et à *Loa loa* en Afrique centrale". Thèse de Doctorat, Université Paris XII-Val de Marne, France, (2004) 360 p.
- [17] - E. SOUMBAY-ALLEY, M. G. BASAÑEZ M. G, Y. BISSAN, B. A. BOATIN, H. REMME, N. J. NAGELKERKE, S. J. DE VLAS, G. BORSBOOM and J. D. HABBEMA, "Uptake of *Onchocerca volvulus* (Nematoda : Onchocercidae) by *Simulium* (Diptera: Simuliidae) is not strongly dependant on the density of skin microfilariae in the human host", *J Med Entomol*, 41 (2004) 83 - 94
- [18] - OMS, "L'onchocercose (la cécité des rivières) - Informations sur la maladie", (2013). [Internet] http://www.who.int/blindness/partnerships/onchocerciasis_disease_information/fr/. Consulté le 3 Mars 2018
- [19] - G. L. ACAPOVI-YAO, N. D. POKOU and L. G. ZAKPA, "Différenciation et structuration génétiques des populations de *glossina palpalis palpalis* dans la zone d'azaguié (côte d'Ivoire) à l'aide de marqueurs microsatellites", *REV. CAMES*, Vol. 03, N°01 (2015) 2424 - 7235
- [20] - A. SEKETELI, G. SCHUNUNIS, V. W. H BRAKEL and A. VASSAL, "Tropical diseases targated for elimination : chagas disease, lymphatic filariasis, onchocerciasis and leprosy. Disease control priorities in developing countries", The world bank and oxford university press, (2006)
- [21] - CDC (Centers for Disease Control and Prevention), "*Onchocerciasis*", (2013). [Internet] <http://www.cdc.gov/parasites/onchocerciasis/>. Consulté le 13 Novembre 2018
- [22] - M. J TAYLOR, A. HOERAUF and M. BOCKARIE, "Lymphatic filariasis and onchocerciasis". *Lancet*, 376 (2010) 1175 - 1185
- [23] - IRIN, "Côte d'Ivoire : Recrudescence de l'onchocercose dans les zones forestières", (2007), [Internet] <https://reliefweb.int/report/c%C3%B4te-divoire/c%C3%B4te-divoire-recrudescence-de-lonchocercose-dans-les-zones-foresti%C3%A8res>. Consulté le 3 décembre 2018
- [24] - D. QUILIEVERE, "Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, biologiques et vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire", *Travaux et Documents de l'ORSTOM*, 109 (1979) 307

Genetic Diversity of *Simulium damnosum* complex Onchocerciasis Vector and its Influence on Entomological Monitoring in the West of Côte d'Ivoire

Siriki Simaro,

Université Jean Lorougnon Guédé,
Unité de Formation et de Recherche en Agroforesterie, Daloa, Côte d'Ivoire

Mathurin Koffi,

Université Jean Lorougnon Guédé,
Unité de Formation et de Recherche en Environnement, Daloa, Côte d'Ivoire

Mahama Toure,

Université Jean Lorougnon Guédé,
Unité de Formation et de Recherche en Agroforesterie, Daloa, Côte d'Ivoire

Bernardin Ahouty,

Université Félix Houphouët-Boigny,
Unité de Formation et de Recherche de Biosciences, Abidjan, Côte d'Ivoire

Ibrahim Konate,

Abiba Sanogo Tidou,

Université Jean Lorougnon Guédé,
Unité de Formation et de Recherche en Agroforesterie, Daloa, Côte d'Ivoire

Doi:10.19044/esj.2019.v15n36p106 [URL:http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n36p106](http://dx.doi.org/10.19044/esj.2019.v15n36p106)

Abstract

In West Africa, *Onchocerca volvulus*, the causative pathogen of human onchocerciasis, is transmitted by sibling species of the *Simulium damnosum* complex. Little is known about blackfly intraspecific variability and its consequences on vectorial capacity in Côte d'Ivoire. This study reports the use of microsatellite markers to study the genetic profile and evaluate the gene flow between populations of *S. damnosum s.l* from three (3) different epidemiological facies in western Côte d'Ivoire, fifteen years after the end of onchocerciasis control program. Adult flies were collected on human attractants from 07 : 00 to 18 : 00 hours for three consecutive days by site, from December 2016 to October 2017. Four (4) microsatellite loci were used to characterize individuals from these populations. The four (4) loci were polymorphic with 13.25 alleles per locus. Two (2) specific alleles (190 bp and 290 bp), were reveal abundant with respective frequencies of 0.46 % and 0.58

%). A significant heterozygosity deficiency and low genetic differentiation ($F_{ST} = 0.046$, $P = 0.024$) have been observed for all the populations. The genetic analysis showed significant deviation from Hardy-Weinberg and significant heterozygosity deficiencies. Then, the great interspecific variability would be a general characteristic in *S. damnosum s.l.* At last, a probable evolution of the invasive strains of *S. damnosum* would have occurred in these localities. This study has shown significant deviation from Hardy-Weinberg and significant heterozygosity deficiencies in the populations of the three localities. The loci give independent estimate genetic parameters. The H3-4 locus to a low genetic differentiation between the populations.

Keywords: Onchocerciasis, *Simulium Damnosum S.L.*, SSR Markers, Polymorphism, Genetic Differentiation

Introduction

Human onchocerciasis, or river blindness, results from infection with the filarial parasite *Onchocerca volvulus*. In West Africa, the incidence of blindness due to infection with *O. volvulus* is much higher in savannah than in forest areas (Prost, 1980). The rate of blindness can reach up to 15 % in savannah, whereas in forest zones, ocular manifestations of the disease are less severe, with a much lower degree of blindness (Duke, 1990). In West Africa, blackflies (Diptera: Simuliidae) of the *Simulium damnosum* complex serve as vectors for *O. volvulus* (Prost, 1980). From 1968, the international community mobilized human financial resources, material and technical to fight against this disease (Hougard *et al.*, 2001). Then, from 1974 to 1990, the World Health Organization set up a vast onchocerciasis control program called OCP (WHO, 2002), which partly covered the endemic countries of West Africa. This strategy has reduced the transmission of the disease below the threshold for a public health problem in the majority of treated areas of covered countries, including Côte d'Ivoire (WHO / APOC ; Sightsavers, 2011). However, after stopping of OCP activities in 2002, Côte d'Ivoire was unable to conduct regular control activities because of the socio-political crisis which had just begin in September 2002. The interruption of larviciding treatments in vector control has certainly exposed resident populations to more and more abundant flies bites (WHO, 2002). OCP objective did not aim the eradication of the parasite and its vector and risk factors for recrudescence of the disease do still exist (Adjami *et al.*, 2006). Therefore, the knowledge of the biological characteristics of *S. damnosum s.l.* populations in view of climatic and environmental changes, but also the determination of the differentiation scale and the estimation of gene flow between populations is necessary. A wide range of molecular markers has been used for population studies. These include chromosomal inversions, allozymes, random amplified DNA

polymorphisms, mitochondrial DNA sequences, and microsatellite loci analysis (Simard *et al.*, 1999). Microsatellites are informative polymorphic DNA markers that are widely used to examine genetic diversity in the population of *anopheles funestus* (Cohuet *et al.*, 2005), *Aedes aegypti* (Ravel *et al.*, 2001 ; Ravel *et al.*, 2002), *Triatoma dimidiata* (Anderson *et al.*, 2001), *Glossina palpalis* (Solano *et al.*, 1999), and *Simulium damnosum s.l* (Dumas *et al.*, 1998). In this study we focus on microsatellite to decipher the genetic diversity of *S. damnosum s.l* and evaluate the gene flow between populations of *S. damnosum s.l* in the context of climate and environmental changes.

Material and Methods

Capture biting adult females of *S. damnosums s.l.*

The classical capture method at human's bait (Le Berre, 1966 ; Philippon, 1977 ; Simaro *et al.*, 2019) was used for collection of blackflies. A team of two people accomplished the capture of blackflies, one hour per person. The daily collected specimens was separated into clockwise period, and the flies capture tube containing one fly per tube, were labeled with the location, date and time of capture. The catches were made from 7 am to 6 pm for 3 days by site. One site per locality was investigated and the individuals capturing were located 20 m from the river. Specimens were collected from December 2016 to October 2017.

Morphological identification of female blackflies

Morphological parameters such as antenna and bristles of the wing tuft colors ; the colors of the arculus ; the scutellum bristles ; the first article of the anterior paw or procoxa and the bristles of the 9th abdominal tergite were examined (Quilievéré., 1976 ; Simaro *et al.*, 2019). The combined analysis of these parameters made it possible to identify savana female blackflies (*S. damnosum ss* and *S. sirbanum*), and forest females (*S. yahense*, *S. sanctipauli*, *S. squamosum* and *S. soubrenses*).

DNA extraction from blackflies specimens

Simulium damnosum s.l DNA was extracted from the whole body of adult female, according to a protocol based on NaCl buffer and adapted by the Research Unit of Genetics and Molecular Epidemiology (URGEM) of Jean Lorougnon Guede University. Briefly, the blackflies were manually crushed in a 1.5 ml eppendorf tube containing 200 µl of red blood cell lysis buffer. The mixture was then incubated at 56 °C for 1 h to lyse the proteins. A centrifugation at 12 000 rpm for 30 min permit to recover the solubilized DNA in the aqueous phase. The DNA is then precipitated in 200 µl of absolute ethanol and then deposited by centrifugation for 20 minutes at 12 000 rpm.

The DNA deposit is then dried at room temperature overnight and re-suspended in 75 µl of TE buffer.

DNA amplification with microsatellite markers

Primers developed previously for *S. damnosum s.l* (Dumas *et al.*, 1998) were used for Polymerase chain reaction (PCR) (Table 1). PCR was carried in 50 µl final volumes, containing 2.5 µl of MgCl₂ with 10X reaction buffer, 1.5µl of desoxyribonucleotide (dNTP 200 µM), 1 µl of each primer, 1 units of Taq DNA polymerase, 2.5 µl of ADN sample and 16.3 µl moléculaire water. After an initial denaturation at 92 °C for 5 min, samples were processed through 40 cycles consisting of a denaturation step at 92 °C for 30 s, an annealing step at 50 °C for 30 s, and an extension step at 72 °C for 1 min. The final elongation step was lengthened to 10 min. Amplification products were checked by electrophoresis on 2 % agarose gels immersed in 0.5X TBE buffer. 5 µl of each amplified sample is mixed with 2 µl of loading buffer (glycerol 50 %, bromophenol blue 0.2 %, xylene cyanol 0.2 %, EDTA pH 8 0.2M). A ΦX174 size marker was used to quantify allele size. After 45 minutes of electrophoretic migration, the gel is visualised with a gel viewer (BioDOC-IT System) under UV light.

Table 1: Microsatellite loci, forward and reverse primer sequences.

Locu s	Repeat sequence	Primers Sequence (5' 3')▶	Designation	Product length (bp)
60.1	(GT)AT(GT)AT(GT) ₁₀	CCCATTTGCCAGTTGAGGTGA CCCGTCAACATTGTGGCTACG	SS1 SS2	975
64.2	(GT)GC(GT) ₁₀	ATCATGACGAGGACGCACTC TACGCACACATTTTCTATTTC	SS3 SS4	510
7.4	(GT) ₁₁ TT(GT)	CGCTAACGCTGTGCAATATTG TGACGAACTTTGGGACGACA	SS7 SS8	270
H3-4	(CAG) ₂ (CAA) ₁₀ (CAG)	CGACAACGTGTCTCGACAAA CGAAAACAACATACGAAGGG	SS9 SS10p	500

Data analysis

Test for linkage disequilibrium and Genetic variability parameters for each population (number of distinct alleles, observed and expected heterozygosities under Hardy-Weinberg equilibrium), were conducted using GENETIX software, version 4.05.1 (Belkhir *et al.*, 2004). The Fstat software version 2.6.4 (Goudet, 2003), is used to estimate the heterozygosity deficiencies of individuals in their sub-population (F_{IS}), and simulated distribution of heterozygosity between a pair of populations (F_{ST}). The FDIST2 software (Beaumont et Nichols, 1996) was used to identify markers submitted for natural selection.

Results

Simulian fauna

A total of 4244 blackflies were captured during the survey. Two groups of *Simulium* species have been identified. The savanna group species (*Simulium damnosum* ss, and *S. sirbanum*) abundant in Touba and Bouaflé with 2900 blackflies captured, and the forest group species (*S. squamosum*, *S. sanctipauli*, *S. soubrense*) present only in Soubré with 1103 blackflies.

Genetic polymorphism of *s. damnosum s.l* populations

Electrophoretic profiles (Fig.1) obtained after the PCR reveals 33 different alleles in the whole populations. 17 alleles were observed at the 60.1 locus, 12 alleles at the 64.2 locus, 11 alleles at the 7.4 locus and 13 alleles at the H3-4 locus, with an average number of 13.25 alleles per locus. The alleles size vary from 100 bp at the H3-4 locus to 975 bp at the 60.1 locus. A specific allele 190 bp is revealed at the loci 60.1, 64.2 and 7.4, with respective frequencies of 0.38 %, 0.55 %, 0.45 %. Similarly, the 290 bp allele is revealed abundant to the H3-4 locus with a frequency of 0.58 %

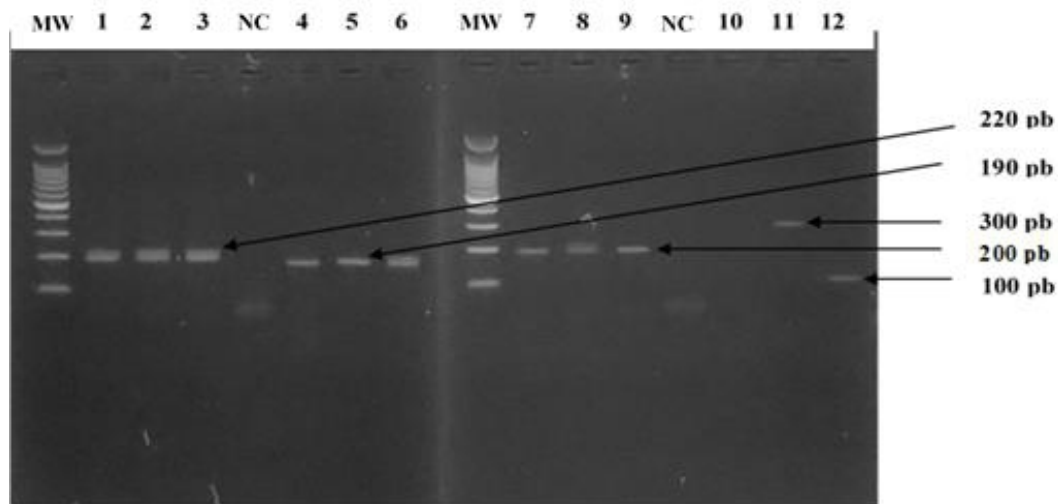


Fig 1: Electrophoregram on 2 % agarose gel.

Abbreviation: MW: Molecular weight marker (72 bp) ; 1, 2, 3, 6, 8: Sample of heterozygous profile ; 4, 5, 7, 9, 11, 12: Homozygous profit sample ; NC: Negative control

Linkage disequilibrium within the three zones

The exact test of the linkage disequilibrium between all the loci in each sample made it possible to analyze a total of 961 allelic combinations. No significant values were obtained across all populations for any locus combination ($P > 0.05$ for each pairwise comparison), suggesting that the loci give independent estimate of population genetic parameters.

Genetic variability among populations

Mean observed heterozygosity per locus, varied between 0.346 and 0.428 respectively in Soubré and Bouaflé. Which is lower than expected heterozygotes (0.710 for Soubré and 0.576 for Touba) (Table 2). The four polymorphic loci, showed significant deviation from Hardy-Weinberg. Moreover, the F_{IS} values were positive at all loci, indicating extensive heterozygosity deficiencies.

Table 2: Genetic diversity and intrapopulation differentiation

Locus		Touba	Bouaflé	Soubré	P-value
	N		147	151	
	n	8	10	12	
60.1	H_o	0.429	0.543	0.469	0.0139
	H_e	0.631	0.724	0.817	0.0239
	F_{IS}	0.321	0.251	0.426	0.0466
	N	6	7	9	
64.2	H_o	0.282	0.377	0.260	0.0252
	H_e	0.480	0.680	0.721	0.0525
	F_{IS}	0.415	0.446	0.639	0.0619
	N	8	7	7	
7.4	H_o	0.333	0.385	0.379	0.0272
	H_e	0.586	0.684	0.771	0.0567
	F_{IS}	0.433	0.438	0.510	0.0625
	N	7	9	6	
H3-4	H_o	0.371	0.408	0.276	0.0264
	H_e	0.609	0.593	0.532	0.057
	F_{IS}	0.392	0.312	0.482	0.061
	N	29	33	34	
Moyenne	H_o	0.353	0.428	0.346	0.011
	H_e	0.576	0.670	0.710	0.0145
	F_{IS}	0.3879	0.3616	0.5134	0.0314

Abbreviation: N : number of individuals tested in the population ; n : number of alleles ; H_o : heterozygote observed ; H_e : Heterozygote expected ; P-value : probability of conformity to the Hardy-Weinberg equilibrium

Genetic differentiation of *S. damnosum s.l* populations

The exact test for population differentiation indicated that a low genetic differentiation is observed, when comparing F_{ST} between the three populations (Table 3), suggesting that genotypes of the individuals result from the same gene pool. The overalls F_{ST} were 0.025, 0.007 and 0.016 for pairwise populations of Touba and Bouaflé, Touba and Soubré, and Soubré and Bouaflé, respectively. In the same way, populations of Touba and that of Bouaflé are genetically close to from each other ($F_{ST} = 0.025$).

Table 3: Genetic Differentiation in *S. damnosum* Populations

Loci	60.1	64.2	7.4	H3-4	all loci	p-value
Touba/ Bouaflé	0.032	0.022	0.010	0.037	0.025	0.057
Touba / Soubré	0.090	0.042	0.038	0.113	0.071	0.007
Soubré / Bouaflé	0.049	0.030	0.038	0.052	0.042	0.016
Total	0.057	0.031	0.028	0.067	0.046	0.024

Markers under selection

Analysis of F_{ST} between populations of *S. damnosum s.l.*, indicates that no microsatellite loci are submitted to the natural selection (Fig. 2). When we are around the median (expected F_{ST} under the neutral hypothesis), two (2) markers 64.2 and 7.4 showed low levels of genetic differentiation between populations. In contrast the 60.1 and H3-4 loci showed a moderate level of genetic differentiation, but the H3-4 locus would contribute more to this genetic differentiation between populations.

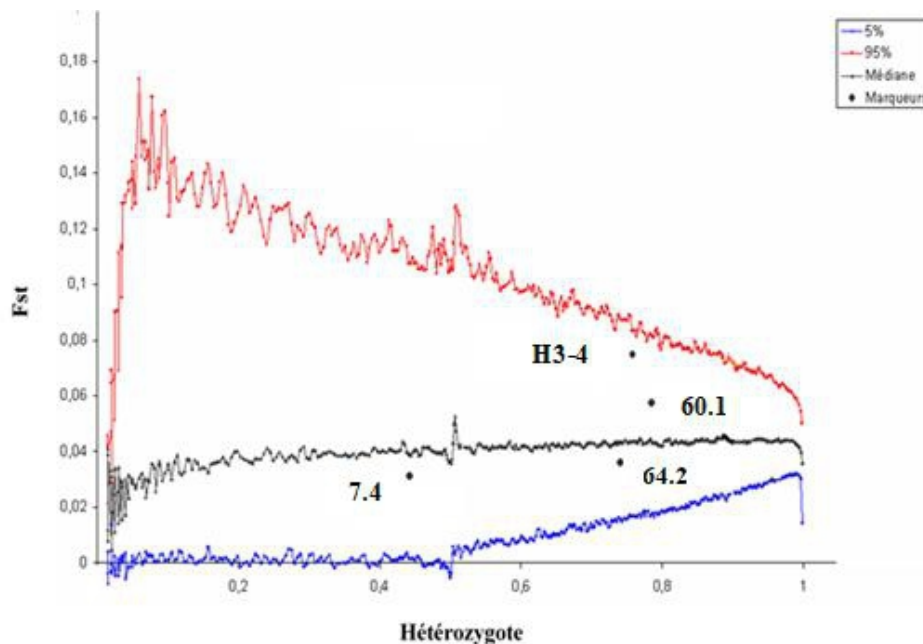


Fig. 2: Expected F_{ST} values for heterozygosity on four (4) microsatellite markers at three (3) populations of *Simulium damnosum s.l.*

Discussion

All of the blackflies captured in this study belong to the *S. damnosum s.l.* complex as reported by previous studies in other localities of the country, especially at the ecological station of Taï and the site of the dam of Soubré (Traore *et al.*, 1980 ; Traore and Hebrard, 1981 ; Yapi *et al.*, 2014). Specific identification indicates that savanna species constitute essential of the catches in the sites of Bouaflé and Touba. With regard to the site of Soubré, forest species are the only ones encountered. Indeed, Bouaflé borders the "V

Baoule", advanced profound towards the South, in the forest. In relationship with deforestation and declining rainfall in recent decades, we are witnessing a gradual reduction of extent of the wooded areas and southern wet. This induce the progression of the species distribution area of *S. damnosum* vectors of savanna onchocerciasis towards the south where they substitute, sometimes massively, and more and more durably, to native species wetlands. However, the group of savanna blackflies (*S. damnosums*, *S. sirbanum*) and savannah *O. volvulus* form one of the most effective couples in onchocerciasis transmission (WHO, 2002).

The microsatellite loci used to evaluate the level of genetic variation, were highly polymorphic in the three populations, ranging from 11-17 alleles per locus. This number is accordance with results obtained in two *S. damnosum s.l* populations study of Mali (Dumas *et al.*, 1998), in which 8-12 mean alleles per locus were found. Also, the few studies of *S damnosum s.l* at population level using molecular markers (Adjami *et al.*, 2006) indicate, in general, a great interspecific variability. This high level of genetic polymorphism would be a general characteristic in *S. damnosum s.l*. No linkage disequilibrium between loci was detected in any population, suggesting that the loci give independent estimates of population genetic parameters. Similar studies of other tropical disease vectors corroborate this result. It's about especially works of Acapovi-Yao *et al.* (2015) on the genetic differentiation and structuration of *Glossina palpalis palpalis* populations in Azaguié zone (Côte d'Ivoire), and Akré *et al.* (2015), on the genetic structure of *Anopheles nili s.s* vector populations of malaria in rural and peri-urban of Côte d'Ivoire.

Genetic analysis of *S. damnosum s.l* populations showed significant deviation from Hardy-Weinberg and significant heterozygosity deficiencies. Such deficiencies would be generated by numerous factor, including inbreeding, population structure and null alleles. Indeed, the analysis of 7.4 and H3-4 markers reveals the failure of PCR amplification was due to point mutation in the primer. So, the fact that some alleles have not amplified at some loci, makes the presence of null alleles is the most explanation for these deficits of heterozygosity. These results are in agreement with the study of Dumas *et al.* (1998). They also demonstrated the existence of null alleles during their study on the use of microsatellite markers to differentiate two savanna populations in Mali. Also, inbreeding could also be the cause of this deficiency, but it seems unlikely, since such effects should be expected to be evident for all loci (Dumas *et al.*, 1998). Structuration of the population is another cause of the heterozygosity deficiencies observed. Of the three studied sites, two are within the area of OCP control, where blackflies populations have been regularly eliminated through insecticides treatments. If recolonization occurs and is very recent, a Walhund effect could ensue

(Adjami *et al.*, 2006). This would produce heterozygosity deficiencies, if the colonizing populations are markedly differentiated (Dumas *et al.*, 1998). Another explanation could be the presence of mixed species in these populations. (Estrada-Franco *et al.*, 1992) demonstrated that an excess of homozygotes in *anopheles* populations was due to mixed species of the *Anopheles quadrimaculatus* complex, leading to the description of a new species.

The study performed by comparing two by two samples of *S. damnosum s.l.*, has shown the existence of a low genetic differentiation between these populations. This result could be explained by high migration rates, estimated from null alleles (Slatkin, 1985). The results obtained in this study confirms the preceding study of Adjami *et al.* (2006), which tend to show that the migration is an essential characteristic of *S damnosum s.l.* Also, the high dispersal ability of *S. damnosum s.l* in combination with high migration rates, permitted a genetic mixing which tends to homogenize populations and limit their differentiation. However, mean pairwise F_{ST} low significance between Western Simulium populations from Côte d'Ivoire, would be due to a probable evolution of the main of invasive *S. damnosum* strains in these localities. This evolution would have occurred during the migrations, which would have favored genetic exchanges between Simulium populations.

The microsatellite markers used in this study do not show natural selection signatures in *S. damnosum s.l.* populations. However, the H3-4 locus with a moderate differentiation index would be the region of the genome susceptible to be involved in the long term, in a probable adaptation of Simulium to very diverse environmental conditions across its distribution area. This is the approach of (Beaumont and Nichols, 1996), which is based on the idea that in a population, all genome loci have same F_{ST} . Only the loci under selection derogate from this rule, because the natural selection edit their F_{ST} .

Conclusion

This study showed significant deviation from Hardy-Weinberg and significant heterozygosity deficiencies in the populations of the three localities. Then the hypothesis of a Wahlund effect is also suggested. Also, the study of linkage disequilibrium between loci indicates that, the loci give independent estimate genetic parameters. The H3-4 locus is not systematically involved in the genetic differentiation observed. Since then, only constraints specific to this locus would be at the origin of the differences observed. The presence of null alleles is revealed at this locus. Finally, this locus contributes by the value of its F_{ST} to a low genetic differentiation between the populations. Complementary studies will be carried out to deepen knowledge on the genetic structure of populations of this vector onchocerciasis in Côte d'Ivoire.

References:

1. Acapovi-Yao, G.L., Pokou, N.D., & Zakpa, L.G. (2015). Différenciation et génétiques des populations de *glossina palpalis palpalis* dans la zone d'azaguié (Côte d'Ivoire) à l'aide de marqueurs microsatellites. *Science de la vie, de la terre et agronomie REV. CAMES*, 03(01), 2424 -7235.
2. Adjami, A.G., Ravel, S., Toé, L., Sanfo, M.S., Bissam, Y., Yaméogo, L., & Cuny, G. (2006). Spatiotemporal study of genetic variability of *simulium damnosum* s.l. on the axis Sierra Leone-Guinea -Mali. Thèse de doctorat, Université de Montpellier II, France. (pp 118-26).
3. Akre, A.M., Touré, M., & Kengne, P. (2015). Structure génétique des populations d'*anopheles nili* s.s vecteur du paludisme en milieu rural et periurbain de Côte d'ivoire. *European Scientific Journal*. 11(6), 857-7881.
4. Anderson, J.M., Lai, J.E., Dotson, E.M., Cordon-Rosales, C., Ponce, C., Noms, D.E & Beard, C.B. (2001). Identification and characterization of microsatellite markers in the Chagas disease vector *Triatoma dimidiata*. *Infect Genet Evol.* 1, 243-8.
5. Beaumont, M.A., & Nichols, R.A. (1996). Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure," *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 263, 619 -1626.
6. Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Bonhomme, F. (2004). GENETIX 4. 05.2. Logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. [Online] Available : <http://www.univmontp2.fr/~genetix/genetix/constr.htm#> (July 10, 2018).
7. Cohuet, A., Dia, L., Simard, F., Raymond, M., Rousset, F., Antonio-Nkondjio, C., Awono-Ambene, P.H., Wondji, C.S., & Fontenille, D. (2005). Gene flow between chromosomal forms of the malaria vector *Anopheles funestus* in Cameroon, Central Africa, and its relevance in malaria fighting. *Genetics.* 169, 301-11.
8. Duke, B.O.L. (1990). Human onchocerciasis-an overview of the disease. *Acta Leiden*, 59, 9-24.
9. Dumas, V., Herder, S., Bebb, A., Cadoux-Barnabe, C., Hellee, C., & G. Cuny. (1998). Polymorphie microsatellites in *Simulium damnosum* s.l. and their use for differentiating two savannah populations : implications for epidemiological studies. *Genome.* 41, 154-61.
10. Estrada-Franco, J.G., Ma, G.C., Lanzaro, M., Gwadz, R., Galvan-Sanchez, C., Cespedes, J.L., Vargas-Sagarnaga, R., & Rodriguez, R. (1992). Genetic evidence of a species complex in *Anopheles pseudopunctipennis*. *Boletin de la Oficina Sanitaria Panamericana.* 69, 219 -236.

11. Goudet, J. (2003). Fstat Version 2.9.4 : a computer program to calculate F-statistics,” *Journal of Heredity*. 86, 485-486.
12. Hougard, J.M., Alley, E.S., Yameogo, L., Dadzie K.Y., & Boatman, B.A. (2001). Eliminating after 14 years of vector control : a proved strategy,” *Journal Infection Disease*, 84, 497-503.
13. Le Berre, R. (1966). Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum* Théobald, 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoires ORSTOM*. 17, 204.
14. Philippon, B. (1977). Etude de la transmission d'*Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893) (Nematoda, Onchocercidae) par *Simulium damnosum* Theobald, 1903 (Diptera, Simuliidae) en Afrique tropicale. *Tropicale et documentation de l'ORSTOM*. (pp 308).
15. Prost, A. (1980). Latence parasitaire dans l'onchocercose. *Bull world health organ*. (pp 923-5).
16. Quilievéré, D. (1976). Contribution à l'étude des caractéristiques taxonomiques, biologiques vectrices des membres du complexe *Simulium damnosum* présents en Côte d'Ivoire. *Travaux et Documents de l'ORSTOM*. (pp 307).
17. Ravel, S., Herve, J.P., Diarrassouba, S., Koné, A., & Cuny, G. (2002). Microsatellite markers for population genetic studies in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cote d'Ivoire : evidence for a microgeographic genetic differentiation of mosquitoes from Bouake. *Acta Trop*. 82, 39-49.
18. Ravel, S., Monteny, N., Velasco Olmos, D., Escalante Verdugo, J., & Cuny, G. (2001). A preliminary study of the population genetics of *Aedes aegypti* (Diptera :Culicidae) from Mexico using microsatellite and AFLP markers. *Acta Trop*. 78, 241-50.
19. Sightsavers. (2011). Elimination de l'Onchocercose : plan d'action accéléré dans 24 pays recevant le soutien de Sightsavers 2011-2021. *207(544)*. 38 -110.
20. Simard, F., Fontenille, D., Lehmann, T., Girod, R., Brutus, L., Gopaul, R., Dournon, C. and Collins, F.H. (1999). High amounts of genetic differentiation between populations of the malaria vector *Anopheles arabiensis* from west Africa and eastern outer islands. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 60, 1000 -1009.
21. Slatkin, M. (1984). Gene flow in natural populations. *Annu. Rev. Ecol. Syst*, 16, 393-430.
22. Solano, P., de La Rocque, S., Cuisance, D., Geoffroy, B., De Meeus, T., & Du Vallet, G. (1999). Intraspecific variability in natural populations of *Glossina palpalis gambiensis* from West Africa, revealed by genetic and morphometric analyses. *Med Vet Entomol*. 13, 401-7.

23. Traore, S., & Hebrard, G. (1981). Les capacités vectrices naturelles des femelles du complexe *Simulium damnosum* (Diptera, Simuliidae) au niveau de la station écologique de Taï. Doc ronéo OCCGE/ORSTOM. (pp 81).
24. Traore, S., Philippon, B., & Hebrard, G. (1980). Bioécologie et caractéristiques vectrices naturelles des femelles du groupe *S. soubrense* - *S. sanctipauli* sur le bas-Sassandra (site du barrage de Soubré). Doc Techn OCCGE. 7556, 80.
25. Simaro S., Koffi M., Touré M., Yao P., Ahouty B., & Tidou A.S. (2019). Capacité Vectorielle et abondance des populations du complexe *Similium damnosum* dans trois faciès épidémiologiques à l'ouest de la Côte d'Ivoire. *Afrique SCIENCE*.15(2) ,16-23.
26. WHO / APOC. (2009). Rapport de la 29^{ème} session du Comité Consultatif Technique (CCT), Ouagadougou. (pp 115).
27. WHO. (2002). Module de formation des techniciens entomologiste à la prise en charge et à la supervision des activités entomologiques de lutte contre l'onchocercose. (pp 15).
28. Yapi, Y.G., Traore, F.D., Coulibaly, D., & TIA, E. (2014). Etude contributive à la connaissance des populations de simulies dans la commune de Bouaflé, Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire. *Int.J. Biol. Chem. Sci.* 8(6), 2540 -2551.