

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE, DE LA SANTÉ ET DE L'ENVIRONNEMENT (ED-SEV)

—

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

Année : 2014

N° d'ordre : 121



THESE DE DOCTORAT

Spécialité : Ecologie et gestion des écosystèmes

Présentée par : **Bruno SENHOR**

Etude de la dynamique de transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire dans les écosystèmes pluvio-temporaires de Niakhar (région de Fatick, Sénégal)

Soutenue le 22 Décembre 2014 devant le jury composé de :

Président :	M. Ousmane	FAYE	Professeur titulaire	FST/UCAD
Rapporteurs :	M. Daouda	NDIAYE	Professeur titulaire	FMPO/UCAD
	M. Gilles	DREYFUSS	Professeur titulaire	Université de Limoges France
Examineurs :	Mme. Thérèse	DIENG	Maître de conférences agrégé	FMPO/UCAD
	M. Momar Talla	SECK	Chargé de recherche	LNERV/ISRA
	M. Omar Talla	DIAW	Directeur de recherche	LNERV/ISRA
	M. Cheikh	SOKHNA	Chargé de recherche	URMITE/IRD
Directeur de thèse :	M. Cheikh Tidiane	BA	Professeur titulaire	FST/UCAD

Titre : Etude de la dynamique de transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire dans les écosystèmes pluvio-temporaires de Niakhar (région de Fatick, Sénégal)

Résumé : La schistosomiase urinaire est la forme de bilharziose la plus fréquente au Sénégal et reste un problème de santé publique. Dans les foyers le long du fleuve Sénégal où la transmission est continue et *S. haematobium* co-endémique avec *S. mansoni*, les traitements répétés ont permis de réduire leur morbidité mais les populations sont constamment réinfectées et de façon importante, rendant ainsi difficile le contrôle à long terme de la maladie. Par contre, dans la plupart des régions du pays où les foyers sont constitués de mares et marigots temporaires et seul *S. haematobium* est endémique, aucune étude de la dynamique de la transmission de la schistosomiase urinaire et de l'effet des traitements n'a été effectuée. Le but de cette étude était de comprendre l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire à Niakhar, une zone de transmission saisonnière dans la région de Fatick, au Sénégal. Pour atteindre cet objectif, nous avons d'abord mesuré en 2010 l'endémicité de la maladie en déterminant la prévalence et l'intensité de l'infection chez 210 enfants âgés de 7 à 15 ans. Nous avons ensuite évalué en 2011 l'efficacité et l'impact d'un seul traitement sur la ré-infection chez 329 enfants âgés de 5 à 15 ans. Nous avons également étudié la dynamique et le rôle des mollusques hôtes intermédiaires de 2011 à 2013. Enfin, nous avons évalué l'impact d'un traitement annuel administré en 2011, 2012 et 2013 sur la transmission de *S. haematobium* sur une cohorte de 624 enfants et adultes âgés de 5 à 60 ans. Avant les traitements, la prévalence moyenne était de 57,6 % chez les enfants de 7 à 15 ans en 2010. En 2011, chez ceux de 5 à 15 ans et dans la population générale (5 à 60 ans), les prévalences étaient de 73,3 % et 57,7 %, respectivement. Nos résultats ont montré une grande efficacité d'un traitement unique par le praziquantel avec des taux de guérison variant entre 68,1 % et 100 %. La prévalence moyenne dans la cohorte après le premier traitement a été significativement réduite de 57,7 % à 4,2 %. Les intensités élevées de l'infection ont également été réduites de 43 % à 2,3 %. La prévalence moyenne de la première réinfection en mars 2012, était de 9,5 %. Elle a été réduite à 0,3 % en juillet 2012 après le deuxième traitement. Après la deuxième ré-infection, la prévalence était de 11,2 % en mars 2013 et a été de nouveau réduite à 0,9 % en juillet 2013 après le troisième traitement. Enfin, après la troisième ré-infection, elle est restée toujours très faible (10,1 %) en avril 2014 par rapport à la prévalence avant intervention (57,6 %). *B. senegalensis* et *B. umbilicatus* sont les mollusques hôtes intermédiaires impliqués dans la transmission de *S. haematobium* à Niakhar. Les deux bulins sont capables de résister à la sécheresse pendant 6 à 7 mois. La présence de *B. umbilicatus* est signalée pour la première fois à Niakhar et dans la région du Sine-Saloum. Sa capacité à maintenir l'infection au cours de la période estivante est également rapportée pour la première fois. Le taux global de bulins infectés a diminué après les traitements de 0,8 % en 2012 à 0,5 % en 2013. Les traitements répétés ont un réel impact sur la schistosomiase urinaire chez les populations fréquentant uniquement des marigots et mares temporaires en raison de la nature du système épidémiologique à transmission saisonnière. Ce qui n'est pas le cas dans le bassin du fleuve Sénégal où la transmission est permanente. Ainsi, pour maintenir la prévalence de *S. haematobium* à un niveau plus faible et impacter davantage sur la morbidité, une lutte malacologique adaptée à ces écosystèmes temporaires est nécessaire.

Mots clés : Schistosomiase – *S. haematobium* - Mollusques- *B. umbilicatus* – *B. senegalensis* – Transmission saisonnière – Traitement – Praziquantel – Réinfection.

Title: Study of the dynamics of seasonal transmission of urinary schistosomiasis in the temporary ecosystems of Niakhar (region of Fatick, Senegal)

Summary: Urinary schistosomiasis is the most common form of schistosomiasis in Senegal and remains a public health problem. In foci along the Senegal River, where the transmission is continuous and *S. haematobium* co-endemic with *S. mansoni*, repeated treatments have reduced morbidity but populations are constantly and significantly reinfected, making it difficult to control long-term disease. By cons, in most parts of the country where foci are made of temporary pools and backwaters, only *S. haematobium* is endemic and no study of the dynamics of transmission of urinary schistosomiasis and the effect of treatment was performed in these epidemiological systems. The purpose of this study was to understand the epidemiology of urinary schistosomiasis in Niakhar an area of seasonal transmission in the region of Fatick, Senegal. To achieve this goal, we first measured in 2010 the endemicity of the disease by determining the prevalence and intensity of infection among children aged 7 - 15 years. We then evaluated in 2011 the effectiveness and impact of a single treatment on re-infection among 329 children aged 5 – 15 years. We also studied from 2011 to 2013 the dynamics and the role of the snail intermediate hosts. Finally, we evaluated the impact of an annual treatment administered in 2011, 2012 and 2013 on the transmission of *S. haematobium* in a cohort of 624 children and adults aged 5 – 60 years. Before treatments, the average prevalence was 57.6% among children aged 7-15 years in 2010. In 2011, among those aged 5-15 years and in the general population (5-60 years), the prevalence was 73.3% and 57.7%, respectively. Our results showed a high efficiency of a single treatment with praziquantel with cure rates ranging between 68.1% and 100%. The average prevalence in the cohort after the first treatment was significantly reduced from 57.6% to 4.2%. The high intensities of infection were also reduced by 43% to 2.3%. The average prevalence of the first reinfection in March 2012 was 9.5%. It has been reduced to 0.3% in July 2012 after the second treatment. After the second re-infection, the prevalence in the cohort was 11.2% in March 2013 and was reduced to 0.9% in July 2013 after the third treatment. Finally, after the third re-infection, the prevalence was always remained very low (10.1%) in April 2014 compared with the baseline prevalence (57.6%). *B. umblicatus* and *B. senegalensis* are the snail intermediate hosts involved in the transmission of *S. haematobium* in Niakhar. Both Bulinid are able to withstand drought for 6-7 months. The presence of *B. umblicatus* is reported for the first time at Niakhar and in the region of Sine-Saloum. Its ability to maintain the infection during the period of drought is also reported for the first time. A decrease in the overall rate of infected snails was noted after treatment by 0.8% in 2012 to 0.5% in 2013. The repeated treatments have a real impact on urinary schistosomiasis in populations using only temporary ponds and backwaters because of the nature of the epidemiological system with seasonal transmission. So, to keep the prevalence of *S. haematobium* at a lowest level and more impacted on the morbidity, a malacological control adapted to these temporary ecosystems is necessary.

Key words: Schistosomiasis – *S. haematobium* -Snails- *B. umblicatus* – *B. senegalensis* – Seasonal transmission – Treatment – Praziquantel – Reinfection.

DEDICACES

A notre mère (in mémorium), même si tu n'as pas guidé nos premiers pas scolaires, tu garde toujours une grande place dans notre mémoire et notre cœur. Que la terre te soit toujours légère.

A notre père, que Dieu te laisse encore plus longtemps parmi nous.

A notre grand-mère Marie Thérèse SENGHOR, femme d'exception qui a guidé nos premiers pas scolaires et nous a donné l'éducation dont nous en sommes respectables aujourd'hui. Ce travail est le fruit de tes efforts, trouves en notre profonde reconnaissance.

A nos oncles Adrien SENGHOR, Gaston SAMBOU et leurs familles respectives, pour votre soutien.

A Joseph et Laurent DIATTA pour votre soutien dans nos études au lycée.

A tous nos grands frères en particulier Gustave et Frédéric SENGHOR. Vous avez œuvré à la réussite de ce travail, en guidant nos premiers pas universitaires. Vôtres soutiens moraux, financiers, et vos conseils inestimables nous ont permis de faire ce parcours. Ce travail est le vôtre. Soyez en fiers.

A nos petites sœurs, neveux et nièces. Que ce travail soit pour vous une source de motivation.

A la famille DIATTA de Dieuppeul, spécialement mère GNIMA, merci pour tous. Que la paix et la bénédiction de Dieu soit toujours avec la famille.

A notre Ami de tous les jours Famara Kabirou SADIO. Merci pour ces moments passé ensemble sur la même table de la classe de 6^{ème} à la Terminale.

Nos cher(e)s ami(e)s et collègues de la Faculté des Sciences, Yankhoba DIEDHIOU, Ibrahima DRAME, Jean Marie SAMBOU, Fatou TINE. Merci pour le groupe de travail. Vous avez aussi contribué à la réalisation de ce Travail.

A mes amis de Dieuppeul. Nous vous remercions énormément.

A notre fille Stéphanie Hélène SENGHOR et à sa maman Irma SAMBOU. Mention spéciale à toi Irma pour toutes ces 15 années de fidélité et de confiance. Tu a toujours répondu présente même dans les moments les plus difficiles. Que le fruit de ce travail soit votre bonheur de vivre.

A tous ceux qui de près ou de loin nous ont accordé leurs intelligences et respects.

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans cette thèse ont été réalisés grâce à la collaboration entre l'IRD, le Département de Biologie Animale de la Faculté des Sciences et Techniques de l'UCAD et l'UMR INSERM 1094 Neuroépidémiologie Tropicale et Comparée de la faculté de Pharmacie de l'Université de Limoges. Le recueil des données qui ont été exploitées dans ce document a été facilité par la disponibilité remarquée de l'Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes (URMITE) sous la direction Scientifique du Docteur Cheikh SOKHNA.

Par conséquent, nous tenons à remercier :

DIEU de sa grâce pour nous avoir donné la santé, la volonté, la force d'aller jusqu'au bout de ce travail.

Monsieur Michel LAURENT, Président de l'IRD

Pour avoir accepté de nous accueillir dans votre prestigieuse institution en vue de la réalisation de ce travail. Nous avons le sentiment d'avoir bénéficié d'un privilège à travers l'immense contribution matérielle, votre personnel et vos différents services. Merci infiniment.

Professeur Didier RAOULT, Directeur de l'URMITE (IRD, Marseille)

Pour nous avoir permis de réaliser cette thèse dans votre unité. Merci pour l'intérêt et l'attention que vous nous avez accordé à travers l'organisation des nombreux Works in Progress (Wip).

Nous tenons sincèrement à remercier notre comité de thèse :

Professeur Cheikh Tidiane BA (FST/UCAD)

Pour avoir accepté sans hésitation de diriger cette thèse. La rigueur scientifique, le dynamisme, la persévérance et la disponibilité constante déterminent l'homme de science que vous êtes. Vous avez été au début et à la fin de ce travail malgré vos nombreuses occupations. Vos qualités scientifiques et humaines, votre grande disponibilité et surtout votre humilité suscitent en nous un profond respect. Soyez assuré cher professeur de notre profonde admiration et de nos sincères remerciements. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Docteur Cheikh SOKHNA (IRD/UCAD)

Nous avons été particulièrement touchés par votre sympathie et votre disponibilité à répondre à toutes nos préoccupations scientifiques et techniques depuis notre stage de DEA (Diplôme d'Etude Approfondies) dans votre unité. Merci pour avoir accepté de nous accueillir à nouveau dans votre unité. Vous avez cru en ce projet de thèse et avez mis à notre disposition le peu de moyens financiers et techniques dont dispose l'Urmite pour sa réalisation. Nous ne pourrons jamais vous remercier assez. Recevez en ces moments si importants de notre

carrière scientifique, notre profonde reconnaissance et toute notre gratitude. Que Dieu vous accorde santé et longue vie.

Docteur Aldiouma DIALLO (IRD)

C'est un grand plaisir pour nous d'avoir bénéficié à nouveau de votre encadrement. Vous avez toujours répondu présent à nos nombreuses sollicitations aussi bien dans le bureau que sur le terrain. Merci d'avoir contribué avec un soin attentif à la monture et à la réalisation de ce projet malgré vos nombreuses occupations. Le temps passé auprès de vous, nous a permis de connaître un homme d'une grande modestie, simplicité et plein d'humanisme. Cela n'est pas surprenant de vos qualités de Médecin. Merci pour la confiance faite à ma modeste personne. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Docteur Omar Talla DIAW (ISRA)

C'est une grande chance pour nous d'avoir à travailler avec vous durant cette thèse. Merci pour les encouragements et pour nous avoir beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail du début à la fin. Vous nous avez initiés à la malacologie et vous vous êtes investi en temps plein dans l'encadrement scientifique de ce travail. Nous avons beaucoup appris à votre côté. Vous avez partagé sans rien laisser vos connaissances sur les trématodoses humaines et animales en général, et les mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes en particulier. Vous avez suscité en nous un grand intérêt pour la malacologie. Les discussions constructives que nous avons toujours eues avec vous nous ont été d'un grand apport dans ce travail qui est aussi le votre. Nous espérons avoir la force et la capacité de faire plus que vous dans la lutte contre les schistosomiasés au Sénégal. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Docteur Idrissa TALLA (PNLB)

Pour avoir accepté d'encadrer aussi ce travail malgré vos multiples responsabilités. Votre emploi du temps très chargé ne nous a pas permis de nous voir très souvent. Mais dès que nous parvenons à vous rencontrer, nous en sortons toujours avec des connaissances supplémentaires. Que le seigneur tout puissant vous accorde toujours sa grâce et vous accompagne dans ce noble travail que vous menez au service de la santé au Sénégal.

Monsieur Mouhamadane SEYE (ISRA)

Pour nous avoir aussi initié à la collecte et à l'étude de l'infestation des mollusques sur le terrain. Merci pour les nombreux encouragements et surtout pour avoir accepté aussi de partager avec nous sans réserve vos connaissances sur la malacologie et les schistosomiasés. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Docteur Félicité Flore DJUIKWO-TEUKENG (Université Limoges France)

Pour l'intérêt et les grands efforts réalisés dans notre formation en biologie moléculaire à Limoges en France. Merci pour l'apprentissage, les conseils et les explications concernant

les techniques d'études moléculaires sur les mollusques et leurs infestations. Que Dieu vous accord longue vie et santé.

Nous remercier également les personnes qui ont bien voulu juger ce travail.

Professeur Ousmane FAYE

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites encore en acceptant de présider ce jury de thèse. Vos qualités intellectuelles, votre disponibilité, et votre abord facile ont toujours laissé en nous un souvenir d'un homme exemplaire. Veuillez accepter nos hommages de profondes gratitude et nos respectueuses considérations. Que Dieu vous accord longue vie et santé.

Professeur Gilles DREYFUS

Pour avoir acceptez de nous accueillir afin de réaliser les études de biologie moléculaire au sein de l'UMR INSERM 1094 Neuroépidémiologie Tropicale et Comparée. Vous nous avez offert une occasion de découvrir d'autres techniques d'études des mollusques. Vos qualités humaines et professionnelles reconnus par toute la communauté de l'université de Limoges nous ont profondément marqués. Merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant spontanément de juger ce travail. Que Dieu vous accord longue vie et santé.

Professeur Daouda Ndiaye

C'est un grand honneur pour nous que vous acceptiez de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Votre jugement nous sera d'une grande importance pour la suite de notre carrière. Veilliez recevoir monsieur le professeur nos sincères remerciements. Que Dieu vous accord longue vie et santé.

Docteur Thérèse DIENG

Pour avoir également accepté de façon spontanée de juger et faire un rapport sur cette thèse. Merci pour l'honneur que vous faites. Vos critiques et suggestion seront pour nous d'un grand intérêt. Que la paix du seigneur soit toujours avec vous.

Docteur Momar Talla SECK

C'est un insigne honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail malgré vos multiples occupations. Dès notre première rencontre, vous nous avez marqué par votre abord facile et simplicité. Merci pour la qualité des conseils et suggestions que vous nous avez donnés tout au début de ce travail. Nous vous prions de trouver ici, l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre grande admiration. Que Dieu vous accord longue vie et santé.

Nous remercions aussi les personnes morales et physiques qui ont aussi contribuées à la réalisation de ce travail.

Professeur Samba DIALLO (in mémorium)

Nous avons aussi eu la chance de vous rencontrer chez vous avant que vous nous quittiez. Nous aurions aimé que vous lisiez ce document mais Dieu en a décidé ainsi. Merci pour les orientations et les encouragements. Que la terre vous soit toujours légère.

L'Ambassade de France à travers le projet U3E

Pour la bourse d'étude qui nous a permis de réaliser les études de biologie moléculaire en France.

L'ensemble du personnel enseignant et technique de l'école Doctorale ED-SEV pour les enseignements et l'accompagnement administratif.

Docteur George DIATTA (IRD)

Vous nous avez apporté un appui inoubliable durant notre passage à l'IRD depuis le DEA. Nous étions heureux de découvrir un homme rigoureux, aux remarquables qualités intellectuelles et humaines. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Docteur Souleymane DOUCOURE (IRD)

Mention spéciale pour avoir toujours laissé ouverte la porte de votre bureau. La rigueur et l'amour du travail bien fait sont les principaux souvenirs que nous retiendrons de vous. Nous vous exprimons notre profonde gratitude pour l'intérêt avec lequel vous vous êtes investis dans ce travail. Merci surtout pour les gros efforts réalisés dans les corrections du document et de nos articles.

Doctorant Seydou Nourou SYLLA (IRD/UGB)

Nous avons beaucoup appris à votre côté sur la statistique. Votre contribution à la réalisation de la base de données et l'exploitation statistique des données a été sans commune mesure. Trouvez ici ma profonde reconnaissance.

Docteur Youssouph MANE (IRD)

Pour avoir corrigé en premier le document. Vos suggestions nous ont été d'une grande importance pour la suite de la rédaction du document. Merci pour tous.

Docteur Oleg MEDIANNIKOV (IRD)

Merci pour l'intérêt et les explications que vous avez accordé à l'étude moléculaire de mes échantillons de mollusques.

Docteur Alpha Kabinet KEITA (IRD)

Votre humilité, votre savoir faire et votre disponibilité nous ont beaucoup marqué. Permettez nous de vous remercier pour avoir accepté de nous accorder votre temps.

Monsieur Paul SENGHOR (IRD)

Merci pour nous avoir initié à la technique d'analyse des urines et pour nous avoir beaucoup aidé à surmonter bien des difficultés sur le terrain et au laboratoire depuis notre DEA. Trouvez ici, l'expression de notre parfaite reconnaissance. Que Dieu vous accorde longue vie et santé.

Monsieur Malick TOURE (IRD)

Merci pour nous avoir beaucoup aidé sur le terrain. Votre disponibilité pour l'Urmite est incontestable et connue de tous. Merci pour avoir accepté de partager beaucoup de chose avec nous. Nous vous serons éternellement reconnaissants. Que la paix du Seigneur soit toujours avec toi.

Toute l'équipe de l'URMITE à Dakar

Pour toute l'attention et l'aide apportés dans la réalisation de ce travail.

Mention spéciale aux chauffeurs Alassane Faye, Diarra, Modou Diouf, Omar Niang, Assane Faye, Modou Diop. Merci pour votre disponibilité et votre compréhension.

Tous les collègues avec qui nous avons partagé le bureau à l'IRD : Seydou N Sylla, Masse Sambou, Seynabou Sougoufara, Seynabou Mocote Diédhiou et Justine amélé-nyedzié Wotodjo. Mention spécial à toi Justine, merci pour tous.

Rima Zein Eddine merci pour nous avoir beaucoup aidés dans les travaux de laboratoire à Limoges.

Toute l'équipe de l'UMR INSERM 1094 Neuroépidémiologie Tropicale et Comparée

Merci pour l'accueil et l'intégration.

Tous le personnel de l'IRD à Niakhar

Les enquêteurs démographiques et ceux du projet Grippe. Mention spéciale à Albert Maronne, Albert Faye, Cheikh Sadibou Ndiaye, Birame Ndiaye, Patrick Djéguane Faye, Daouda Faye, Saliou Ndiaye, Mamadou Diouf, Robert Diate, Waly Sène. Merci pour votre aide sur le terrain.

Toute la population de la zone d'étude de Niakhar

Un grand merci à tous les enfants et les adultes qui ont toujours collaborés à cette étude.

*Aux restauratrices à la station de l'RD de Niakhar spécialement Mère Khady et Amy Diouf.
Merci pour votre collaboration.*

Toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à notre éducation et à notre apprentissage, particulièrement à nos enseignants du primaire au lycée et au corps professoral de la faculté des sciences et techniques de l'UCAD pour avoir partagé durant ces années leurs connaissances avec nous. Merci beaucoup!

**PARTICIPATION À DES MANIFESTATIONS
SCIENTIFIQUES**

Participation à des manifestations scientifiques

- ❖ 9^{ème} congrès international francophone de la Société de Pathologie Exotique : Novembre 2013 à Dakar, Sénégal (Simple participant).

Présentations orales

- ❖ 3^{ème} journée de l'Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Émergentes (URMITE) : Bilharziose urinaire : prévalence et intensité de l'infestation chez les enfants en âge scolaire. Novembre 2010 à Dakar, Sénégal.
- ❖ 5^{ème} journée URMITE : Transmission de la schistosomiase urinaire à Niakhar. Novembre 2012 à Dakar, Sénégal.
- ❖ 6^{ème} journée URMITE : Dynamique de la transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire à Niakhar de 2011 à 2012. Novembre 2013 à Dakar, Sénégal.
- ❖ 7^{ème} journée URMITE : Impact du traitement annuel répété sur la transmission de la schistosomiase urinaire à Niakhar. Mardi 11 Novembre 2014.
- ❖ 4^{ème} Doctoriales de l'École Doctorale Sciences de la Vie, de la Santé et de l'Environnement : Etude de la dynamique de la transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire à Niakhar, Fatick, Sénégal. Février 2013 à Dakar, Sénégal.
- ❖ Symposium Scientifique des 50 ans d'existence de Niakhar : Bilharziose urinaire à Niakhar : Evolution des prévalences et des ré-infections après traitements au praziquantel de 2011 à 2013. 25 – 26 Février 2014 à Dakar, Sénégal.

Posters

- ❖ 3^{ème}, 5^{ème}, 6^{ème} et 7^{ème} journée URMITE. Novembre 2010, 2011, 2013 et 2014 à Dakar, Sénégal.
- ❖ 6^{ème} Congrès international de la société ouest Africaine de Parasitologie : Utilisation de la technique de PCR pour l'identification des bulins et la détection de leur infestation par *Schistosoma haematobium* à Niakhar, Sénégal. Décembre 2012 à Dakar, Sénégal.

**LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET
TERMES ANGLAIS**

Liste des abréviations, sigles et termes anglais

A

AAC	Antigène anodique circulant
ADN	Acide désoxyribonucléique
Anofel	Association française des enseignants de parasitologie et mycologie médicale
ARN	Acide ribonucléique

C

CCA	Antigène cathodique circulant
CR	Cure Rate
Cox1	Cytochrome oxydase C 1

E

ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ERR	Eggs Reduction Rate

G

GPS	Global position system
GMEC	Geometric eggs mean count

I

IARC	International Agency for Research on Cancer
IC	Interval de confiance
Ig	Immunoglobuline
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IRD	Institut de Recherche pour le Développement

ISRA	Institut Sénégalais de Recherche Agricole
ITS	Internal transcript spacer

K

Kg	Kilogramme
----	------------

L

LNREV	Laboratoire National d'Élevage et de Recherche Vétérinaire
-------	--

M

m	Mètre
MDA	Mass drug administration
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization- Time-Of-Flight mass spectrometry
mg	Milligramme
mm	Millimètre
mn	Minute

N

No	Nombre
N°	Numéro

O

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
-----	-----------------------------------

Liste des abréviations, sigles et termes anglais

P

PCR	Polymerase Chain Reaction
pH	Potentiel hydrogène
PNLB	Programme National de Lutte contre les Bilharzioses
PZQ	Praziquantel

U

UMR	Unité Mixte de Recherche
URMITE	Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses Tropicales Emergentes

S

S	Suivi
SDEE	Surveillance Démographique, Epidémiologie et Environnementale
Sp.	spèce

T

T	Traitement
---	------------

V

VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
-----	-------------------------------------

W

WHO	World Health Organisation
-----	---------------------------

µm	Micromètre
----	------------

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Répartition géographique mondiale de <i>Schistosoma haematobium</i>	9
2	Le couple de ver adulte de <i>Schistosoma haematobium</i> , fortement grossis, d'après Bilharz	10
3	Morphologie externe d'un œuf de <i>Schistosoma haematobium</i>	11
4	Cycle de la transmission saisonnière de <i>Schistosoma haematobium</i> (cas spécifique de Niakhar Sénégal)	15
5	Les différents groupes de mollusques du genre <i>Bulinus</i>	18
6	Morphologie générale de la coquille de <i>Bulinus umblicatus</i>	22
7	Morphologie générale de la coquille de <i>Bulinus senegalensis</i>	23
8	Morphologie externe d'une furcocercaire de <i>Schistosoma haematobium</i>	26
9	Les grands domaines climatiques du Sénégal	32
10	Répartition géographique de la schistosomiase urinaire au Sénégal	35
11	Localisation de la zone d'étude avec les villages, les concessions enquêtées et les sites d'échantillonnage des bulins	41
12	Pluviométrie totale mensuelle dans la zone d'étude de Niakhar de 2010 à 2013	42
13	Baignade dans une mare en pleine saison des pluies (Août 2013)	43
14	Mare avec une petite flaque d'eau à Niakhar (Novembre 2013)	43
15	Mare à sec à Niakhar (Décembre 2013)	43
16	Collecte des mollusques dans une mare à Niakhar (Octobre 2011)	51
17	Images de <i>B. umblicatus</i> (A) et <i>B. senegalensis</i> (B) collecté dans le marigot "Bill Bill" à Niakhar (Septembre 2011)	98
18	Arbre phylogénétique de <i>B. umblicatus</i> et de <i>B. senegalensis</i> collectés en 2012 à Niakhar	99

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Effectifs des sujets ciblés pour le suivi de la cohorte par village, sexe et classe d'âge	49
2	Tableau récapitulatif des différents sites d'échantillonnage de bulins par village et points d'eau	50

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I: ETAT DES CONNAISSANCES SUR LES SCHISTOSOMES HUMAINS ET LES MOLLUSQUES HÔTES INTERMEDIARES	5
I.1. LES SCHISTOSOMES HUMAINS	6
I.1.1. Données générales	6
I.1.1.1. Données épidémiologiques	6
I.1.1.2. Répartition géographique	8
I.1.2. LE PARASITE <i>SCHISTOSOMA HAEMATOBIMUM</i>	10
I.1.2.1. Position systématique, structure et biologie	10
I.1.2.2. Cycle de développement et manifestations cliniques	11
I.2. LES BULINS HÔTES INTERMEDIAIRES DE <i>S. HAEMATOBIMUM</i>	16
I.2.1. les différents groupes de bulins	16
I.2.2. Techniques de systématique des bulins	18
I.2.3. La bio-écologie des bulins	20
I.2.4. Morphologie, distribution et rôle épidémiologique de <i>B. umbilicatus</i> et <i>B. senegalensis</i>	22
I.3. DIAGNOSTIC DE <i>S. HAEMATOBIMUM</i> CHEZ L'HOMME ET LE BULIN	23
I.3.1. Diagnostic chez l'homme	23
I.3.2. Diagnostic chez le bulin	26
I.4. CONTRÔLE DE LA SCHISTOSOMIASE URINAIRE	27
I.4.1. Contrôle chez l'homme	28
I.4.2. Contrôle des mollusques	29
I.5. LA SCHISTOSOMIASE URINAIRE AU SENEGAL	31
CHAPITRE II: DYNAMIQUE DE TRANSMISSION DE LA SCHISTOSMIASE URINAIRE A NIAKHAR	36
PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS	37
II.1. ZONE D'ETUDE ET METHODOLOGIE	39
II.1.1. Zone d'étude	39
II.1.1.1. Caractéristiques générales de la zone d'étude de Niakhar	39
II.1.1.2. Description des villages suivis	44
II.2. Méthodologie	47
II.2.1. Volet parasitologie	47
II.2.2. Volet malacologie	49

II.3. RESULTATS	53
Présentation de l'ensemble des travaux	54
Etude 1: Prévalence et intensité de la schistosomiase urinaire chez des enfants en âge scolaire dans le district de Niakhar, région de Fatick, Sénégal	55
Présentation de l'étude	55
Article 1	56
Principaux résultats	56
Conclusion	56
Etude 2. Efficacité d'un traitement au praziquantel contre la schistosomiase urinaire et son impact sur la ré-infection chez des enfants en âge scolaire à Niakhar, Sénégal, un foyer simple de transmission saisonnière	63
Présentation de l'étude	63
Article 2	67
Principaux résultats	64
Conclusion	65
Etude 3: Etude de la dynamique des mollusques hôtes intermédiaires de <i>S. haematobium</i> à Niakhar, région de Fatick, Sénégal	97
Présentation de l'étude	97
Article 3	104
Principaux résultats	98
Conclusion	102
Etude 4 : Dynamique de la transmission de après un traitement annuel répété sur 3 ans dans un foyer simple de transmission saisonnière au centre du Sénégal	123
Présentation de l'étude	123
Article 4	129
Principaux résultants	125
Conclusion	128
II.4. DISCUSSION	164
CONCLUSION GENERALE, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS	183
RÉFÉRENCES BIBLIGRAPHIQUES	190
ANNEXES	204

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les schistosomiasés ou bilharziosés sont des affections parasitaires dues à des trématodes, vers plats, à sexes séparés, hémaphogés, vivant au stade adulte dans le système circulatoire des mammifères et évoluant au stade larvaire chez un mollusque d'eau douce.

La schistosomiase humaine est la deuxième endémie parasitaire après le paludisme et constitue un problème majeur de santé publique à travers le monde. Elle est endémique dans 76 pays avec 600 millions de personnes à risque d'infection et plus de 200 millions de cas répertoriés (Steinmann *et al.*, 2006). En Afrique, la parasitose représente un grave problème de santé publique et témoigne des conditions précaires d'hygiène des populations humaines autochtones. Les politiques d'auto-suffisance alimentaire dans ces pays Africains ont permis la création de biotopes pérennes très favorables au développement des populations de mollusques vecteurs. Ce changement des écosystèmes est à l'origine de l'extension et de l'optimisation de la transmission des parasitoses liées à l'eau notamment les schistosomiasés (Vera *et al.*, 1989). À l'heure actuelle, plus de 85 % des personnes infectées, et la plupart des cas graves, se trouvent en Afrique sub-saharienne (WHO, 2002, Steinmann *et al.*, 2006, Utzinger *et al.*, 2009). Plus de 20 millions de personnes sont atteintes d'une forme grave et invalidante, et la mortalité due à la schistosomiase est estimée à environ 200 000 cas par an (WHO, 2002).

Il y a six espèces de schistosomes humaines décrites : *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma intercalatum*, *Schistosoma guineensis*, *Schistosoma japonicum* et *Schistosoma mekongi*. Seules les quatre premières sont rencontrées en Afrique sub-saharienne. Deux sont plus représentées à cause de leur vaste distribution et des conséquences graves à savoir *S. haematobium* agent de la schistosomiase urogénitale et *S. mansoni* responsable de la schistosomiase intestinale (Doumengué *et al.*, 1987, Gryseels *et al.*, 2006). Elles sont responsables d'environ 280 000 décès par an en raison de la fibrose du foie à un stade avancé pour *S. mansoni* et des complications du système urinaire pour *S. haematobium* (van der Werf *et al.*, 2003).

Les travaux de cette thèse ont particulièrement porté sur la schistosomiase urinaire qui est la forme la plus répandue dans le monde avec environ 112 millions de cas et une morbidité estimée à 80 millions. La mortalité peut atteindre 150 000 cas par an (Fenwick *et al.*, 2003).

Dans la lutte contre cette maladie ; la chimiothérapie de masse par le praziquantel occupe une place de choix dans de nombreux programmes de contrôle (WHO, 2006). Malgré quelques rapports

d'échecs thérapeutiques (Stelma *et al.*, 1995, Wang *et al.*, 2012), de nombreuses études ont montré une bonne efficacité du praziquantel avec des taux de guérison et de réduction d'œufs particulièrement élevés (Utzinger *et al.*, 2000, Midzi *et al.*, 2008, Mekonnen *et al.*, 2013, Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). Mais en dépit des effets bénéfiques du praziquantel, il reste toujours inefficace contre les formes juvéniles du parasite de 14 à 35 jours (Utzinger *et al.*, 2003). De ce fait, les populations locales restent exposées de façon permanente ou saisonnière à la ré-infection par les schistosomes. Ce caractère de la schistosomiase est en effet la principale cause des échecs des programmes d'éradication.

La majorité des études sur la dynamique de la transmission de *S. haematobium* ont été réalisées dans des foyers d'infestations simples et/ou mixtes avec *S. mansoni* où la celle-ci est permanente (N'Goran *et al.*, 2003, Koukounari *et al.*, 2007, Garba *et al.*, 2010, Garba *et al.*, 2013, Webster *et al.*, 2013). Des études ont aussi montré que la dynamique de ré-infection de *S. haematobium* dépend largement de plusieurs facteurs tels que la situation écologique, l'épidémiologie, l'exposition à l'eau, les facteurs géographiques, environnementaux et socio-économiques (Kahama *et al.*, 1999, Shaw *et al.*, 1999, N'Goran *et al.*, 2001, Sturrock *et al.*, 2001, Ernould *et al.*, 2004).

Au Sénégal, la schistosomiase est une endémie parasitaire importante. Les deux formes de schistosomes sont inégalement réparties. En 2011, on estimait à 1,421 millions le nombre d'enfants en âge scolaire atteints par les deux formes de schistosomes. Environ 1,300 millions des cas sont dus à *S. haematobium* avec une prévalence nationale moyenne de 25,1 % (Schur *et al.*, 2011). La schistosomiase urinaire et intestinale coexistent de façon endémique dans les régions de la vallée du fleuve Sénégal, du lac de Guiers (Ernould, 1996) mais aussi dans la région de Kolda (Diaw *et al.*, 1986) et Tambacounda (Sy *et al.*, 2008, Ndao *et al.*, 2014). Par contre dans les autres régions du pays excepté la région de Dakar, seulement *S. haematobium* y est endémique et représente de ce fait l'espèce la plus répandue (Ndir, 2000).

Le Sénégal est l'un des rares pays où l'on rencontre un nombre important de bulins hôtes intermédiaires qui interviennent dans la transmission de la schistosomiase urinaire. Cinq espèces de bulins ont été répertoriées au Sénégal sur la base des caractères morphologiques de la coquille (Diaw, 1980, Diaw, 1986, Diaw *et al.*, 1988a, Diaw *et al.*, 1990, Diaw *et al.*, 1992b). Ils s'agissent de *Bulinus forskalii* Ehrenberg, 1831 qui est l'unique bulin incompatible avec *S. haematobium*, *Bulinus senegalensis* Müller, 178; *Bulinus umbilicatus* Mandal Barth, 1973; *Bulinus globosus* Morelet, 1866 et *Bulinus truncatus* Audouin, 1827 qui sont des hôtes confirmés de *S. haematobium*. Les caractères

morpho-enzymatiques, bien que suffisantes pour la détermination des espèces de bulins, sont parfois peu fiables lorsqu'ils sont utilisés pour classer les espèces à une résolution plus élevée en particulier dans le groupe *africanus* (Stothard & Rollinson, 1997, Raahauge & Kristensen, 2000). Au cours des dernières décennies, les études de biologie moléculaire basées sur l'amplification et le séquençage des fragments d'ADN de la zone interne transcritible du ribosome (ITS) et du cytochrome oxydase (Cox) ont été développées et ont joué un important rôle dans la discrimination des espèces de bulins hôtes intermédiaires de *S. haematobium* (Stothard & Rollinson, 1997, Kane *et al.*, 2008). Les études de la systématique des bulins et de leur dynamique sont importantes pour une meilleure compréhension de leur rôle dans la transmission de la schistosomiase urinaire.

La transmission de la schistosomiase au Sénégal varie en fonction de l'écologie et du fonctionnement des foyers (Diaw, 1997, Shaw *et al.*, 1999). Comprendre le fonctionnement des foyers de schistosomiase au Sénégal est donc d'une importance capitale pour élaborer des stratégies de traitement adaptées aux systèmes épidémiologiques. Cela va avec la multiplication des enquêtes de prévalence et de dynamique de transmission au niveau local, régional et national.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé de 2011 à 2014, une étude sur la dynamique de transmission de *S. haematobium* à Niakhar, un foyer à transmission saisonnière.

L'objectif principal de cette thèse est la compréhension de l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire à Niakhar. Afin d'atteindre cet objectif, nous avons mené quatre études portant sur :

- la prévalence et l'intensité de l'infection chez des enfants de 7 à 15 ans dans la zone en 2010-2011 ;
- l'impact d'un traitement unique de praziquantel sur l'infection à *S. haematobium* et sur la ré-infection chez les enfants de 5 à 15 ans de juin 2011 à Mars 2012 ;
- les mollusques hôtes intermédiaires et leurs rôles épidémiologiques de 2011 à 2013 ;
- la dynamique de l'infection au niveau d'une cohorte composée d'enfants d'âge scolaire et d'adultes ; après chaque traitement en rapport avec celle de l'infestation des mollusques hôtes intermédiaires pendant 3 cycles de transmission de Juin 2011 à Mars 2014.

Notre travail comporte deux chapitres :

- un premier qui fera l'état des connaissances sur les schistosomes humains en particulier *S. haematobium* et les mollusques hôtes intermédiaires notamment ceux du genre *Bulinus*.
- un deuxième qui portera sur l'étude de la dynamique de la transmission de la schistosomiase urinaire à Niakhar.

**CHAPITRE I : ETAT DES CONNAISSANCES SUR
LES SCHISTOSOMES HUMAINS ET LES
MOLLUSQUES HÔTES INTERMEDIARES**

I.1. LES SCHISTOSOMES HUMAINS

I.1.1. Données générales

I.1.1.1. Données épidémiologiques

Les schistosomiasés humaines constituent un véritable problème de santé publique dans le monde spécialement dans les régions tropicales et subtropicales en raison de plusieurs facteurs tels que :

- leur endémicité du fait de leur présence dans 76 pays avec 600 millions de personnes exposées ; dont 85% vivent en Afrique et 200 000 décès par an dans le monde dont 150 000 dus à *S. haematobium* (Fenwick *et al.*, 2003) ;
- les atteintes hépato splénomégaliqes causées par les schistosomes intestinaux. Ces atteintes se manifestent par des lésions du foie, de la veine porte et de la rate et peuvent entraîner des formes graves telles que la fibrose péri-portale, l'hypertension portale, l'hépto-splénomégalie et l'ascite (Ross *et al.*, 2002) ;
- les atteintes uro-génitales issues de la schistosomiase urinaire pouvant entraînant des conséquences terribles à savoir un retard de croissance chronique, une insuffisance rénale, un cancer de la vessie, une anémie, des lésions génitales, des saignements du vagin, une pathologie des vésicules séminales, de la prostate et d'autres organes voire une stérilité définitive (Downs *et al.*, 2011).

Elles sont principalement dues à six espèces et toutes les infections à *Schistosoma* sp. surviennent après des contacts directs avec l'eau douce hébergeant des cercaires ; formes infectantes du parasite (Webster *et al.*, 2006).

Trois principaux facteurs sont responsables pour le maintien de la transmission de l'infection :

- la contamination de l'eau douce par les urines ou les selles contenant des œufs viables de schistosomes ;
- la présence des mollusques hôtes intermédiaires ;
- les contacts humains avec l'eau infestée de cercaires de schistosomes.

Le contact avec l'eau douce souillée est le principal facteur de risque d'infection (Jordan *et al.*, 1993). Les principaux groupes à risque sont les enfants d'âge scolaire, les pêcheurs, les travailleurs des zones d'irrigation, les agriculteurs et les femmes. Ces dernières sont souvent en contact avec l'eau contaminée lors de son utilisation à des fins domestiques (WHO, 2002).

La prévalence et l'intensité de l'infection montrent généralement une courbe typique de forme convexe avec un pic à l'âge de 5 à 15 ans, et une diminution à l'âge adulte. Les différences liées au sexe varient en fonction de facteurs comportementaux, professionnels, culturels et religieux (Jordan *et al.*, 1993). Beaucoup d'autres facteurs liés à l'hôte définitif et à l'environnement ont été identifiés comme pouvant augmenter le risque de transmission de la schistosomiase, et/ou influencer la distribution, la prévalence, l'intensité, la morbidité et la mortalité de la maladie. Parmi ces facteurs, il y a ceux liés à la génétique (Quinnell, 2003), au comportement, au regroupement des ménages (Bethony *et al.*, 2001), à la réponse immunitaire, et aux co-infections telles que le paludisme et l'hépatite (IARC, 1994).

Les vers schistosomes peuvent rester longtemps chez l'homme mais ne se multiplient pas. Le statut de la parasitose résulte d'une accumulation d'infections consécutives, où les individus fortement atteints ont généralement un risque plus élevé de développer la maladie. En l'absence de ré-infection, l'infection disparaît lorsque le ver meurt. Cela arrive en général après 3 à 5 ans mais peut persister jusqu'à 30 ans (Gryseels *et al.*, 2006). Dans les zones de forte endémie, les enfants commencent à accumuler des vers dès qu'ils sont assez âgés pour avoir un contact avec de l'eau lors des bains. En raison de la nature chronique de l'infection et de la ré-infection, ils peuvent rester infectés toute leur vie.

La possibilité pour les adultes de développer une immunité contre l'infection des schistosomes a été montrée sur la base de la forme de la courbe âge-intensité d'infection dans les communautés endémiques. En effet, cette courbe montre une augmentation de l'intensité de l'infection au cours des deux premières décennies de la vie, suivie d'une baisse chez les adultes à des niveaux très bas (Butterworth, 1998). De nombreuses études épidémiologiques ont fourni des preuves cliniques que les personnes vivant dans des zones d'endémie acquièrent une certaine forme d'immunité protectrice dite concomitante après des années d'exposition (Betterton *et al.*, 1988b, Gryseels *et al.*, 2006).

Les cinq espèces majeures de schistosome pathogènes de l'homme se distinguent essentiellement par la pathologie qu'elles induisent, leur localisation chez l'homme hôte définitif, la forme et la taille des œufs, l'espèce de mollusque hôte intermédiaire mais aussi par leur répartition géographique (Webster *et al.*, 2006)

I.1.1.2. Répartition géographique

La répartition géographique des espèces majeures de schistosomes est indiquée ci-dessous selon leur fréquence par ordre croissante :

- *S. guineensis* (Fisher, 1934), agent de la bilharziose rectale et génitale. Il loge dans les dans les plexus veineux péri-rectaux. Il est transmis par un mollusque du groupe *B. forskalii*. L'infection est souvent asymptomatique, mais il peut être à l'origine de lésions microscopiques dans l'intestin (principalement le rectum), le foie et les organes génitaux de l'homme et de la femme. Cette espèce est principalement présente en Afrique Equatoriale (Murinello *et al.*, 2006).

- *S. intercalatum* (Fisher, 1934), également responsable de la bilharziose rectale. Cette espèce est peu adaptée à l'homme. Les vers adultes vivent aussi dans les plexus veineux péri-rectaux. L'hôte intermédiaire est un mollusque du genre *Bulinus*. Cette schistosomiase se manifeste par une diarrhée parfois glairo-sanglante, des douleurs rectales ou coliques, des prolapsus rectaux voire des rectorragies (Bouré, 2005). Sa répartition géographique est très limitée. Ce parasite est seulement rencontré au Congo, Zaïre et Niger.

- *S. mekongi* (Voge, Bruckner et Bruce, 1934) responsable de la schistosomiase intestinale avec des complications artério-veineuses. Il se localise principalement dans les plexus veineux mésentériques du grêle. Son hôte intermédiaire est un mollusque prosobranche du genre *Tricula*. Ce parasite est strictement asiatique. Il est présent le long du fleuve Mékong, au sud du Laos, au Cambodge et en Thaïlande (ANOFEL, 2014).

- *S. japonicum* (Katsurada, 1904) responsable des bilharzioses hépatosplénique et artério-veineuse. C'est l'espèce la plus pathogène pour l'homme. Les adultes vivent essentiellement dans les plexus veineux mésentériques supérieurs, mais des couples erratiques peuvent loger ailleurs notamment dans les artères pulmonaires. Les hôtes intermédiaires sont des mollusques du genre *Oncomelania*. La bilharziose à *S. japonicum* est aussi strictement asiatique. Elle sévit en Chine, à Taïwan, en Corée, au Japon et aux Philippines (ANOFEL, 2014).

- *S. mansoni* (Sambon, 1907) causant la bilharziose intestinale et hépatosplénique. Les schistosomes adultes vivent dans les plexus veineux mésentériques inférieurs. *S. mansoni* est transmis par un mollusque gastéropode pulmoné du genre *Biomphalaria*. Cette espèce est responsable d'environ 67 millions de cas de la bilharziose intestinale (Hotez *et al.*, 2006b). Elle existe dans toute l'Afrique intertropicale, l'île de Madagascar, les pays situés autour de la Méditerranée orientale, les îles Caraïbes et l'Amérique du Sud. (Ross *et al.*, 2002).

- *S. haematobium* (Bilharz, 1852) agent de la schistosomiase uro-génitale. Chez l'homme, les vers adultes manifestent un tropisme électif pour les plexus veineux péri-vésicaux. Elle est l'espèce de schistosome la plus répandue dans le monde. La schistosomiase urinaire existe dans 53 pays, au Moyen-Orient et dans la plupart des pays du continent Africain. Les principaux foyers se trouvent en Afrique sub-saharienne, la vallée du Nil en Egypte et au Soudan, le Maghreb et la péninsule arabique (IARC, 1994). Elle en grande partie une infection trouvée dans les zones rurales, mais elle devient un problème croissant en milieu urbain dans de nombreux pays (Mott *et al.*, 1990). Les cours d'eau naturels, les mares et les lacs sont des sources typiques de l'infection. Au cours des dernières décennies, les réservoirs artificiels et les systèmes d'irrigation ainsi que la croissance de la population et les migrations, ont contribué à sa propagation (Gryseels *et al.*, 2006, McManus & Loukas, 2008). Dans les pays, les régions et même les villages, la distribution de la maladie peut être très focale, en fonction des variations des populations de mollusques hôtes intermédiaires et des contacts homme-eau. En outre, la distribution peut être très inégale entre les individus. La majorité des parasites sont généralement présents dans une partie des individus infectés (Gryseels, 1988). La figure 1 suivante montre une vue spatiale de la distribution de la schistosomiase urinaire à travers le monde.

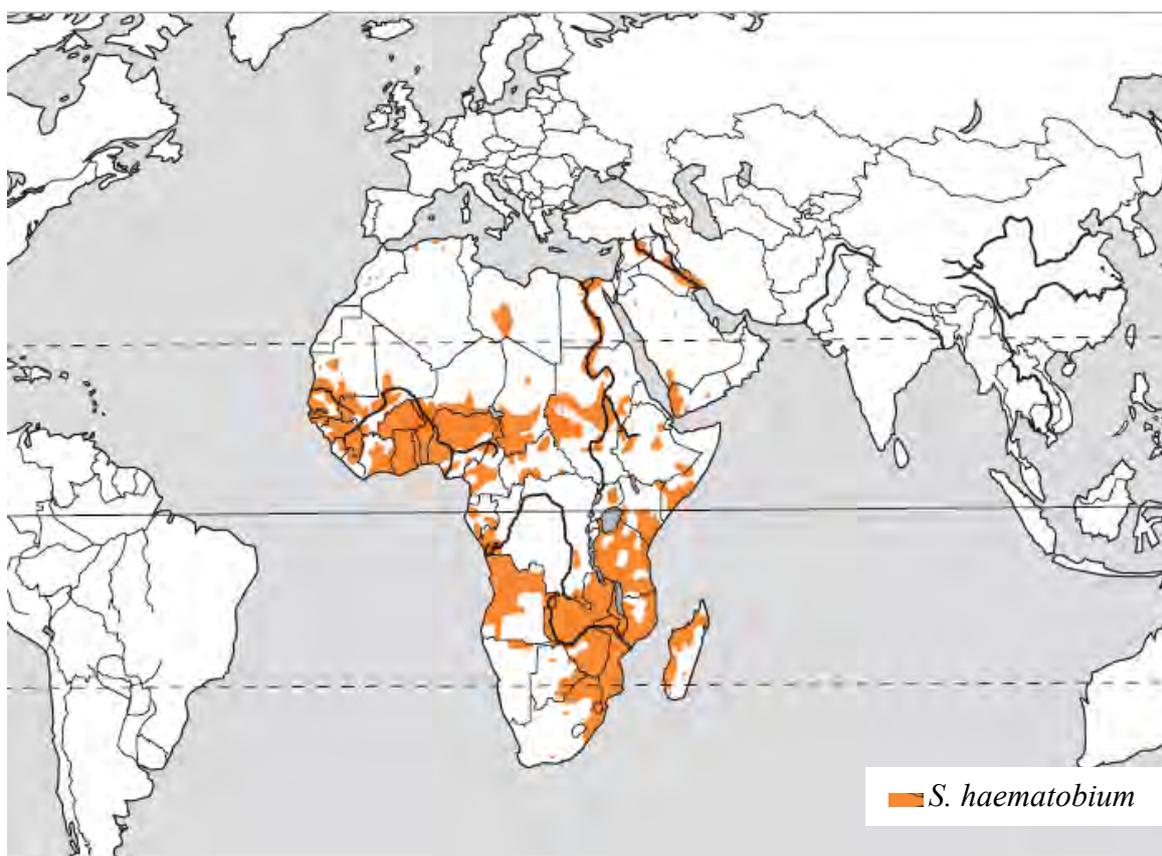


Figure 1: Répartition géographique mondiale de *Schistosoma haematobium* (Gryseels *et al.*, 2006)

I.1.2. LE PARASITE *SCHISTOSOMA HAEMATOBIIUM*

I.1.2.1. Position systématique, structure et biologie

S. haematobium (Bilharz, 1852) est un vers vivant dans le sang et appartenant au genre, *Schistosoma* ; famille, *Schistosomatidae* regroupant des parasites de mammifères et d'oiseaux ; ordre, Strigeatoidea ; sous-ordre, Strigeaeta pourvus de ventouses buccale et ventrale ; sous-classe, Digenea avec un appareil digestif possédant un cæcum ; classe, Trematoda (douves) ; phylum, *Plathelminthia* (vers plats non segmentés) ; sous-règne, metazoa (présence de trois feuilletts embryonnaires) et règne Animalia.

Comme tous les autres schistosomes, *S. haematobium* n'est pas hermaphrodite, mais possède des sexes séparés. Le mâle adulte de *S. haematobium* (figure 2) mesure environ 12 mm de long sur 0,8 à 1 mm de large. Son corps est recouvert par de petits tubercules tégumentaires. Le vers est cylindrique au niveau de son tiers antérieur. Le reste du corps est aplati et les bords latéraux se replient ventralement pour délimiter le canal gynécophore dans lequel loge la femelle. Ainsi, ils forment un couple et ne se séparent que pendant le moment de la ponte.

La femelle (figure 2), de diamètre inférieur à 250 µm, mesure environ 2 cm de long et est cylindrique et filiforme. Elle présente aussi de petits tubercules à l'extrémité postérieure du corps, et apparaissent brune lorsqu'elle est gorgée de sang (Boudain, 1979).

Il existe dans les deux sexes une ventouse orale située à l'extrémité antérieure du corps et une ventouse ventrale épineuse qui leur permet de s'adhérer aux parois des vaisseaux. La ventouse orale s'ouvre dans l'œsophage et joue le rôle de suceur.

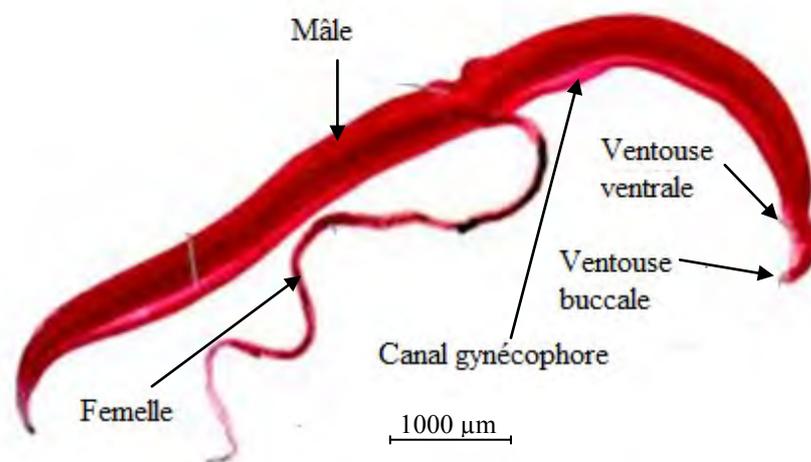


Figure 2 : Le couple de ver adulte de *S. haematobium*

(Disponible sur : <http://www.parasitologie.uhp-nancy.fr>. Consulté le 06/12/2014)

Les organes génitaux mâles et femelles sont situés face à face et permettent ainsi une copulation quasi-permanente. Les œufs de *S. haematobium* (figure 3) sont ovalaires et mesurent 115 à 170 μm de long sur 40 à 70 μm de large. La coque de l'œuf est lisse, épaisse, transparente et percée de nombreux pores. Elle entoure un embryon cilié et mobile : le miracidium. Les œufs portent à l'un des pôles, un éperon terminal caractéristique. Ils sont pondus par paquets dans la sous-muqueuse vésicale et sont éliminés avec les urines. La ponte journalière de chaque femelle est d'environ 300 œufs (Gentilini *et al.*, 1993).

Les schistosomes se nourrissent de particules de sang par la glycolyse anaérobie (Rumnajek, 1987). Chez l'homme, chaque étape du cycle de développement des parasites est caractérisée par des manifestations cliniques qui peuvent par la suite aboutir à des complications.

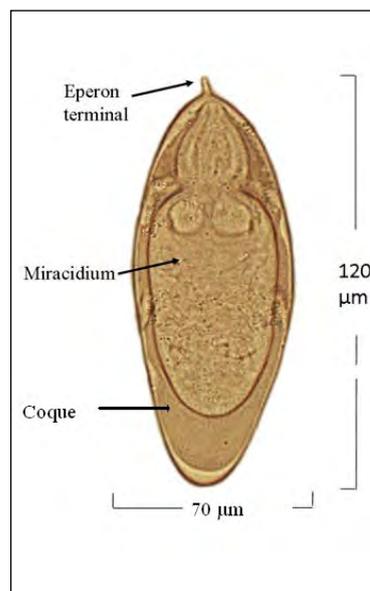


Figure 3: Morphologie externe d'un œuf de *S. haematobium*

(Disponible sur : <http://www.memobio.fr/html/para/pafishi.html>. Consulté le 28/06/2013)

I.1.2.2. Cycle de développement et manifestations cliniques

Le cycle de développement de *S. haematobium* est illustré dans la figure ci-dessous (figure 4). Il comprend obligatoirement deux phases qui correspondent au passage chez l'homme (hôte définitif) et au séjour dans le bulin (hôte intermédiaire). Le passage d'un hôte à un autre se fait toujours dans de l'eau douce. Le cycle se répète toute l'année lorsque les points d'eau sont pérennes et les contacts permanents. Lorsqu'ils sont temporaires, il se renouvelle saisonnièrement.

a) Chez l'homme hôte définitif

Les cercaires, formes larvaires infectantes du parasite pénètrent chez l'homme par voie transcutanée lorsque celui-ci est en contact avec de l'eau infestée par ces larves. La pénétration se fait à travers les pores et est facilitée par l'action combinée des mouvements de la cercaire et des sécrétions de ces glandes céphaliques. Seule la partie antérieure parviendra à passer au niveau du tissu conjonctif sous-cutané. La larve longe ensuite ce tissu jusqu'à ce qu'elle rencontre un vaisseau sanguin ou lymphatique dans lequel elle pénètre. Pendant cette phase de pénétration, l'infection se manifeste par des démangeaisons (urticaires) discrètes qui persistent parfois pendant quelques jours, surtout après les premières infections (Bottieau *et al.*, 2006).

Après pénétration dans un vaisseau lymphatique, la partie antérieure de la cercaire devient un schistosomule qui va être transporté jusqu'au poumon par la voie circulatoire. Il y séjourne pendant 8 jours environ avant d'atteindre le cœur gauche qui l'envoie par la grande circulation vers le foie (Golvan, 1983). Les schistosomules qui atteindront les plexus veineux uro-génitaux, poursuivront leur développement pour devenir adultes au bout de trois semaines environ. A ce stade, ils se mettent à la recherche d'un partenaire pour s'accoupler. Pendant cette période, l'organisme développe une réaction systémique d'hypersensibilité contre la migration et la maturation des schistosomules. La maladie commence à se manifester soudainement avec de la fièvre, de la fatigue, des douleurs diffuses (myalgies, arthralgies), malaise, toux sèche, dyspnée, éosinophilie (Bottieau *et al.*, 2006). Les symptômes abdominaux se développent plus tard et sont provoqués par la migration et le positionnement des vers matures au niveau du plexus veineux péri-vésical. Ces symptômes disparaissent chez la plupart des patients au bout de 2 à 10 semaines, mais persistent chez certains individus avec des complications qui peuvent se manifester par une perte de poids, une dyspnée, des douleurs abdominales diffuses, la toxémie et une éruption cutanée généralisée (Gryseels *et al.*, 2006).

Une fois l'accouplement réalisé, le couple se déplace à contre-courant pour gagner le lieu de ponte. La femelle quitte ensuite le mâle et s'engage dans les fines ramifications veineuses des parois vésicales pour pondre dans une veinule distendue. Les œufs sont déposés en paquets dans la veinule et y restent emprisonnés tandis que la femelle se retire pour regagner le canal gynécophore (Bouré, 2005).

Une partie des œufs lysent ensuite la paroi veineuse à l'aide d'enzymes lytiques, puis passent activement dans les tissus de la paroi urétéro-vésicale et tombent dans la cavité vésicale. De là, ils seront éliminés avec les urines environ deux mois après l'infestation (Bouré, 2005). Cette élimination des œufs s'accompagne de la dysurie, la pollakiurie, la protéinurie, et surtout de l'hématurie qui sont

les indicateurs de la schistosomiase chronique. Ces premiers signes deviennent moins fréquents après l'adolescence (Gryseels, 1988, Chen, 1989).

L'autre partie des œufs reste piégée à l'intérieur de l'organisme dans les tissus lors de la migration péri-vésicale ou après embolisation dans le foie, la rate, les poumons, ou le système cérébro-spinal (Gryseels, 1988). Elle est responsable des principales lésions dues à l'infection chronique. En effet, les œufs des schistosomes sécrètent des enzymes protéolytiques qui provoquent des réactions inflammatoires et granulomateuses, qui sont progressivement remplacées par des dépôts fibrotiques. Ils provoquent une ulcération et une pseudo-polyposie des parois vésicales et urétérales (Cheever *et al.*, 2000). Les lésions chroniques peuvent évoluer vers une fibrose ou une calcification de la vessie et des uretères inférieurs, entraînant une urétéro-hydronephrose et hydronéphrose. La compression chronique peut aboutir à des lésions du parenchyme et l'insuffisance rénale (Gryseels *et al.*, 2006). La durée de vie moyenne d'un ver adulte est de 3-5 ans, mais peut être aussi longue que 30 ans (Wilkins *et al.*, 1987). Une personne infectée abrite probablement en moyenne des centaines de vers (Gryseels, 1996). Si elle n'est pas traitée, elle continue d'émettre des œufs dans l'environnement. Le parasite ne peut poursuivre son cycle que si les œufs sont rejetés dans de l'eau douce présentant des conditions adéquates (température comprise entre 25°C et 30°C, ensoleillement, pH neutre etc.) et des bulins hôtes intermédiaires spécifiques.

b) Dans l'eau et chez le bulin hôte intermédiaire

Dans l'eau, les œufs éclosent et libèrent chacun une petite larve ciliée nageuse : le miracidium. Ce dernier présente des glandes apicales de pénétration, un système nerveux (ganglions cérébroïdes), des protonéphridies, des cellules germinales et quelque fois des taches oculaires (Marchand, 1994). Il se déplace rapidement au hasard dans l'eau à la recherche du bulin hôte intermédiaire spécifique. La rencontre avec ce dernier est facilitée par un mécanisme de chimiotactisme grâce au mucus sécrété par le bulin. Le miracidium dispose de 48 heures au maximum pour se fixer sur ce dernier et y entrer par un mécanisme actif et enzymatique (Gentilini *et al.*, 1993). S'il le trouve, il pénètre à travers les téguments et abandonne son revêtement cilié. A l'intérieur, il se multiplie par polyembryonie. Ce type de multiplication permet au parasite de compenser les énormes pertes subies à tous les stades du cycle. Il se transforme en sporocyste qui donnera naissance à des centaines de sporocystes fils qui à leur tour vont coloniser l'hépatopancréas du bulin. Ces sporocystes fils donneront ensuite naissance à des centaines de cercaires qui sortiront du mollusque par effraction et se retrouvent libres dans l'eau. Un seul miracidium peut donner finalement naissance à 100 000 cercaires (Fain, 1972). La furcocercaire mesure environ 500 µm de long. La partie antérieure ou tête est ovale et allongée avec deux ventouses et une ébauche de tube

digestif bifurqué. De petites épines antérieures jouent probablement un rôle dans la perforation des téguments de l'homme, aidant ainsi l'action des sécrétions lytiques des énormes glandes céphaliques. La partie postérieure du corps se prolonge en une queue grêle terminée par deux palettes natatoires étroites et pointues (Golvan, 1983).

Leur émission peut être quotidienne, avec une intensité qui dépend de la luminosité et de la température de l'eau. Ils sortent pendant les heures les plus chaudes de la journée. Une fois dans l'eau, comme le miracidium, ils nagent activement à la recherche de l'hôte définitif qu'ils doivent rencontrer dans 24 heures car leur survie à l'état libre est limitée (Gentilini *et al.*, 1993). Toutes les espèces de bulins ne sont pas des hôtes intermédiaires de *S. haematobium*. Dans certains foyers, de nombreuses espèces peuvent cohabiter mais il arrive qu'au moins une ne participe pas à la transmission du parasite (Picquet *et al.*, 1996).

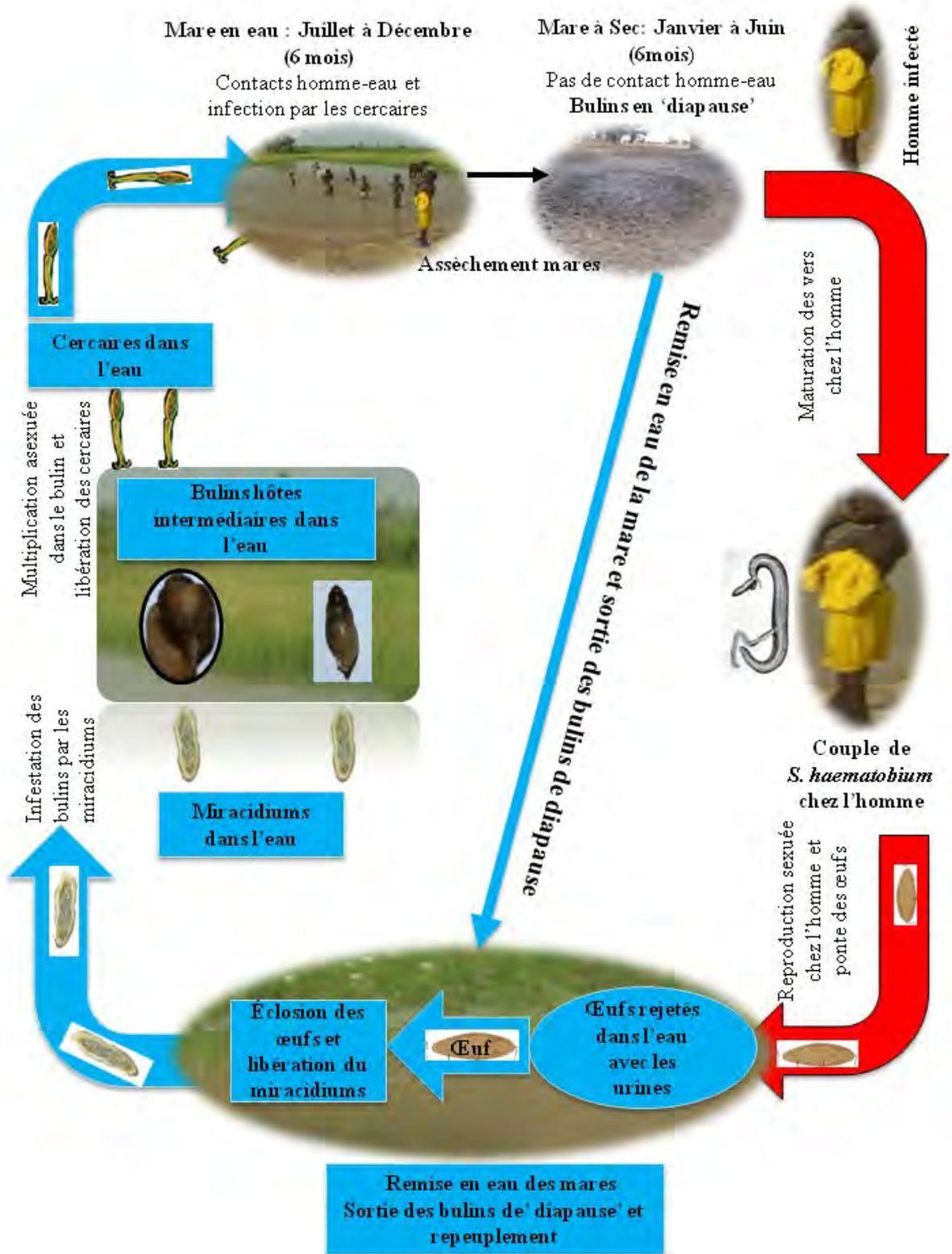


Figure 4 : Cycle de transmission saisonnière de *S. haematobium* (cas spécifique de Niakhar Sénégal), dessiné par B. Senghor

I.2. LES BULINS HÔTES INTERMÉDIAIRES DE *S. HAEMATOBIIUM*

I.2.1. Les différents groupes de bulins

Les bulins hôtes intermédiaires de *S. haematobium* sont des gastéropodes pulmonés appartenant au genre *Bulinus*. C'est le groupe de gastéropodes d'eau douce le plus fréquent en Afrique (Brown, 1994). Ce genre joue un rôle important dans la transmission des trématodoses humaines en tant qu'hôte intermédiaire de parasites comme *S. haematobium*. *B. senegalensis* et *B. umbilicatus* appartiennent au genre *Bulinus* ; sous-famille bulininae ; famille Planorbidae ; ordre Basomatophora ; superfamille Planorbidae ; sous-classe Pulmonata ; classe Gasteropoda ; phylum Mollusca ; et règne Animalia.

- **La famille des Planorbidae**

La famille des planorbidae est l'une des familles de l'ordre des Basomatophora les plus importantes sur le plan médical. Les espèces de cette famille sont caractérisées par une coquille discoïde, senestre et parfois globuleuse. Les tentacules sont longs, filiformes et cylindriques. La structure du système périen est très variable. Elles possèdent une pseudo-branchie bien vascularisée sur le côté gauche. Leur hémolymphe contient de l'hémoglobine à l'origine de la couleur rouge de leur sang (Brown, 1994).

- **La sous-famille des Bulininae**

La sous-famille des bulininae est caractérisée par une coquille senestre, ovoïde et globuleuse. Au total, on dénombre 37 espèces dans le genre *Bulinus* (Doumengué *et al.*, 1987, Brown, 1994). Ces espèces ont été classées en quatre groupes (figure 5) spécifiques suivant la ploïdie, à savoir le nombre de chromosomes (Jelnes, 1979), les allozymes (Biocca *et al.*, 1979) et les techniques biochimiques (Stothard & Rollinson, 1997). Tous les bulins ne jouent pas forcément un rôle dans la transmission des schistosomes. Nous citerons dans chaque groupe seulement les espèces qui ont un rôle naturel confirmé dans la transmission des schistosomes humains comme cela a été décrit dans l'ouvrage de Brown (Brown, 1994).

- **Le groupe *B. africanus* Krauss, 1848**

Ceux sont les espèces de bulins les plus grands. Elles sont caractérisées par la courbure de la partie interne de leur coquille. C'est dans ce groupe que l'on retrouve *B. umbilicatus*. Leur coquille est ovale, les spires modérément hautes et les plis columellaires bien développés plus ou moins tronqués. Ce groupe compte 10 espèces dont 6 ont été confirmées dans la transmission naturelle des schistosomes humaines. Ils s'agissent de *B. nasutus*, *B. jousseaumei*, *B. abyssinicus*, *B. obtusispira* et

B. umbilicatus qui transmettent *S. haematobium* et *B. globosus* qui transmet *S. haematobium* et *S. intercalatum*.

- **Le groupe ou complexe *B. truncatus/tropicus***

Ce groupe comporte le plus grand nombre de bulins (14 bulins). Leur taille est moins grande que celle du groupe précédent. La coquille est assez lisse et sans troncature. Dans ce groupe, seulement 2 espèces jouent un véritable rôle dans la transmission naturelle des schistosomes. Ils s'agissent de *B. truncatus* (*S. haematobium*) et *B. tropicus* (*S. margrebowiei*).

- **Le groupe *B. forskalii***

La coquille est lisse et généralement plus mince que dans les autres groupes. La spire étant plus haute que l'ouverture, les tours de spire sont épaulés et carénés chez certaines espèces. Ce groupe compte 11 espèces dont 3 sont reconnues comme intervenant dans la transmission des schistosomes humains : *B. forskalii* (*S. intercalatum* et *S. margrebowiei*), *B. senegalensis* et *B. camerunensis* (*S. haematobium* et *S. intercalatum*).

- **Le groupe *B. reticulatus***

Ce groupe renferme des bulins de petites tailles dépassant rarement 6 mm de hauteur, avec des tours fortement convexes, une lèvre columellaire largement réfléchie et un large ombilic. Il comprend 2 espèces : *B. reticulatus* et *B. wrighti*. Seule la deuxième intervient dans la transmission de *S. haematobium* dans le sud du Yémen.

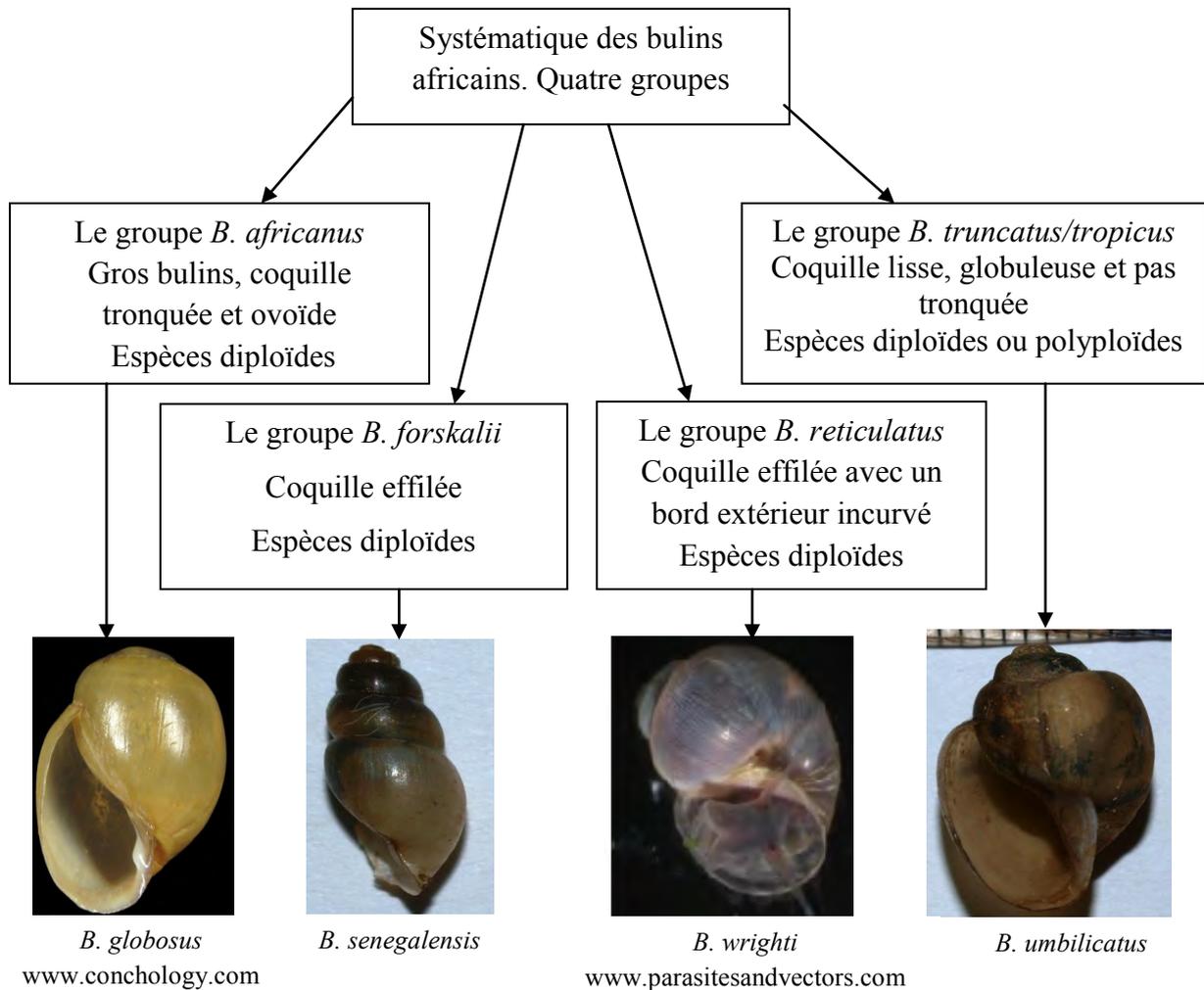


Figure 5 : Les différents groupes de mollusques du genre *Bulinus* (Brown, 1994)

I.2.2. Techniques de systématique des bulins

Des efforts considérables ont été réalisés sur la recherche de méthodes fiables pour la différenciation et l'identification des espèces de *Bulinus* afin de déterminer celles qui jouent un rôle majeur dans la transmission de la schistosomiase urinaire.

a) Techniques morfo-enzymatiques

Ce sont les méthodes de base de la systématique des bulins. Les bulins sont caractérisés par l'absence d'opercule, l'ouverture du péristome à gauche (senestre), leur forme globuleuse ou allongée. Les différences entre les taxons ont été étudiées traditionnellement par l'analyse de la

variation morphologique de la coquille et du nombre de chromosomes (Mandahl-Barth, 1973, Brown, 1994).

La caractérisation par électrophorèse enzymatique a été utilisée pour compléter ces techniques. Elle s'est avérée utile pour l'identification de bulins, l'élucidation des relations entre les taxons et les études portant sur l'aspect de la biologie de la reproduction et la structure de la population (Jelnes, 1979, Rollinson & Southgate, 1979, Rollinson & Wright, 1984). L'appartenance de *B. umbilicatus* au groupe *B. africanus* est due aux propriétés des protéines des œufs et des enzymes. La différence entre *B. senegalensis* et *B. forskalii* a été démontrée par certaines enzymes, sans aucun signe de croisement (Jelnes, 1979). *B. senegalensis* et *B. umbilicatus* ont le même nombre de chromosomes : $2n = 36$ (Jelnes, 1985) mais ils se distinguent facilement par la morphologie de leur coquille. Elle est globuleuse avec un ombilic chez *B. umbilicatus*. Chez *B. senegalensis*, la coquille est allongée sans ombilic.

b) Les techniques moléculaires

Diverses approches nouvelles basées sur des techniques de biologie moléculaire ont été investiguées pour l'identification et la caractérisation des espèces de bulins. Ces techniques permettent de rechercher de variations dans les séquences nucléotidiques grâce à une réaction de polymérisation en chaîne communément appelée PCR. Cette technique est basée sur l'analyse de la variation de gènes de l'ARN ribosomal (ITS) et de l'ADN mitochondriale (Cox) grâce à des marqueurs moléculaires. Ces marqueurs ont été utilisés avec des procédés différents pour caractériser les bulins dans la plupart des pays de l'Afrique. Les principales techniques sont :

- Restriction Fragment Length Polymorphism ou RFLP: Le polymorphisme de taille des fragments de restriction

Cette technique consiste à scinder l'ADN cible en plusieurs fragments par une ou plusieurs endonucléases (enzyme de restriction) spécifiques de certains sites de restriction. Le nombre de ces sites et leurs positions diffèrent en fonction de l'espèce. On a donc un polymorphisme de longueur des fragments de restriction (Botstein *et al.*, 1980). Il est possible d'amplifier certains fragments régénérés par PCR, et on parle de PCR-RFLP. Cette méthode a été utilisée pour étudier la structure génétique des populations de *B. truncatus* au Sénégal (Sène *et al.*, 2004).

- Random Amplification of Polymorphic DNA ou RAPD : L'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe

Cette technique consiste à réaliser une amplification PCR de l'ADN génomique avec des amorces courtes d'environ 10 paires de bases définies de façon aléatoire et une température d'hybridation très basse. Les fragments d'ADN amplifiés sont séparés sur gel d'agarose. Elle a été utilisée pour caractériser les populations de *B. globosus* du Zimbabwe (Davies *et al.*, 1999) et celles

de *B. africanus* du Zanzibar et du Kenya (Rollinson & Southgate, 1979). Cette technique avait aussi été utilisée pour différencier *B. senegalensis* et *B. forskalii* du Sénégal (Jones *et al.*, 2001). Elle a l'avantage d'être rapide avec un coût peu élevé mais sa reproductivité n'est pas grande.

- **Single Nucléotide Polymorphism ou SNP: Le polymorphisme nucléotidique simple**

Ce sont des variations communes d'une seule base au niveau d'une séquence d'ADN entre les individus d'une même espèce. Ces variations sont très fréquentes. Environ 0,1% de notre génome (soit 3 millions de paires de bases) varie d'un individu à l'autre. Elles affectent une seule paire de base, soit par substitution (remplacement d'un nucléotide par un autre), soit par délétion ou insertion d'une base. Un des avantages majeurs des SNP est leur capacité à être typés de façon rapide et semi-automatique. La majorité des SNP n'ont que deux allèles. Ils ont été utilisés pour identifier les bulins de l'Afrique de l'Est (Stothard *et al.*, 2002).

- **Amplified Fragment-Length Polymorphism ou AFLP : Le polymorphisme de longueur des fragments amplifiés**

C'est une combinaison des RFLP et des RAPD. L'ADN est d'abord digéré par des enzymes de restriction, puis des adaptateurs seront fixés aux deux bouts des produits de digestion. Une PCR est ensuite réalisée à l'aide d'amorces qui s'hybrident avec les adaptateurs et qui amplifient de façon sélective des fragments cibles (Vos *et al.*, 1995). Cette technique est utilisée pour identifier *B. umbilicatus* du Niger (Rollinson *et al.*, 2001).

- **La PCR conventionnelle**

C'est une technique de PCR utilisant des amorces universelles pouvant amplifier des fragments de l'ADN mitochondrial (sous-unité 1 du gène du cytochrome oxydase) et ribosomale (zone interne transcritible du ribosome). Cette technique a été utilisée pour amplifier et séquencer des portions de gènes mitochondriaux (COI1) et ribosomaux (ITS2) de *B. forskalii*, *B. truncatus*, *B. globosus* originaires du Sénégal (Kane *et al.*, 2008).

I.2.3. La bio-écologie des bulins

Les bulins sont des organismes hermaphrodites qui pratiquent aussi bien l'allofécondation que l'autofécondation. Leur durée de vie varie entre 12 et 15 mois. Leur fécondité est très élevée. Les œufs pondus en très grande quantité sont enveloppés dans une matière gélatineuse. La période d'incubation dure environ 9 à 10 jours en saison chaude et de 21 jours en période de froid. Les jeunes mollusques sont sexuellement matures et commencent à pondre dès 5 semaines après leur éclosion (Diaw *et al.*, 1999). Les bulins se trouvent généralement en faible profondeur près des rives. Ils se nourrissent de substances organiques, notamment des plantes aquatiques et d'algues unicellulaires.

En l'absence de ces dernières ils se contentent de la boue enrichie en matières organiques en décomposition. Ils effectuent leur ponte sur des pierres, les feuilles des végétaux, les coquilles de leurs congénères et sur tous les objets en suspension sur lesquelles ils peuvent s'accrocher (Brown, 1994).

Ils occupent divers types d'habitats d'eau douce permanents (fleuves, rivières lacs, marigots, mares) et temporaires (mares, marigots, canalisations et eaux stagnantes) qui dépendent des pluies et des conditions d'irrigation dans les zones d'aménagements hydro-agricoles. Ces habitats sont caractérisés par un certain nombre de facteurs physiques, chimiques, biologiques qui conditionnent leur présence ou leur absence et influencent les densités et les fluctuations des populations. Les bulins ont une grande tolérance vis-à-vis de la température. Les températures favorables à leur vie se situent entre 18° C et un peu au-dessous de 32°C. Les variations de la température ont une influence sur la durée de développement des œufs. Les bulins préfèrent les endroits légèrement ombragés. Ils se cachent souvent sous les feuilles et les débris flottants pour éviter les rayons du soleil. Les faibles mouvements de l'eau sont favorables à leur survie car facilitent l'oxygénation du milieu. Mais les vagues violentes, la vitesse élevée, les crues et la forte turbidité peuvent réduire les possibilités d'alimentation et de reproduction. Cela peut également entraîner leur dispersion et par conséquent des fluctuations saisonnières des densités des populations. La salinité élevée a une influence néfaste sur les bulins. Les fluctuations de pH ne semblent pas exercer un effet important sur la densité des populations. Les bulins peuvent vivre à des pH de l'eau comprise entre 4,8 et 9,8. La présence d'espèces compétitrices ou prédatrices naturelles peuvent diminuer les densités des populations. Certains trématodes sont très pathogènes pour les bulins car envahissent les organes de la reproduction et la glande digestive réduisant ainsi leur potentiel de reproduction et pouvant entraîner leur mort (Diaw *et al.*, 1999).

Les bulins sont capables de s'enfoncer jusqu'à quelques centimètres du sol lorsque leurs habitats deviennent secs. Ils peuvent y rester pendant 7 à 8 mois le temps que ces gîtes se remettent en eau lors des prochaines pluies (Goll & Wilkins, 1984, Diaw *et al.*, 1989). Une adaptation à ces écosystèmes est donc essentielle pour la survie et le maintien de ces espèces de mollusques (Betterton *et al.*, 1983). Cette capacité de résistance à la sécheresse des bulins explique leur présence et celle de la schistosomiase urinaire dans les régions à longue saison sèche notamment dans la zone soudano-sahélienne.

I.2.4. Morphologie, distribution et rôle épidémiologique de *B. umbilicatus* et *B. senegalensis*

a) *B. umbilicatus*

L'holotype de *B. umbilicatus* mesurait 16 mm de hauteur et 11 mm de large. Certains individus adultes peuvent atteindre 20 mm de hauteur. Les tours de spire sont convexes, parfois épaulés. La lèvre columellaire est largement réfléchie. L'ombilic est large ; la crête columellaire faible et souvent ne s'étendant pas à la marge de la lèvre (figure 6). La crête rénale est présente dans seulement quelques individus. Il est souvent confondu à *B. globosus* par la morphologie de la coquille mais la présence de l'ombilic et la morphométrie de la coquille produisent des différences en matière d'identification (Mandahl-Barth, 1973).

Il a été rencontré pour la première fois à Zalingui dans la province de Darfour à l'ouest du Soudan. Cette espèce est présente en Afrique de l'Ouest : Mali, Niger, Mauritanie, Sénégal et Gambie. Il est aussi présent en Afrique du Nord au Tchad et à l'Est du Soudan (Brown, 1994).

Il intervient dans la transmission naturelle de *S. haematobium* et de *S. curasonni* au Sénégal (Diaw & Vassiliades, 1987).

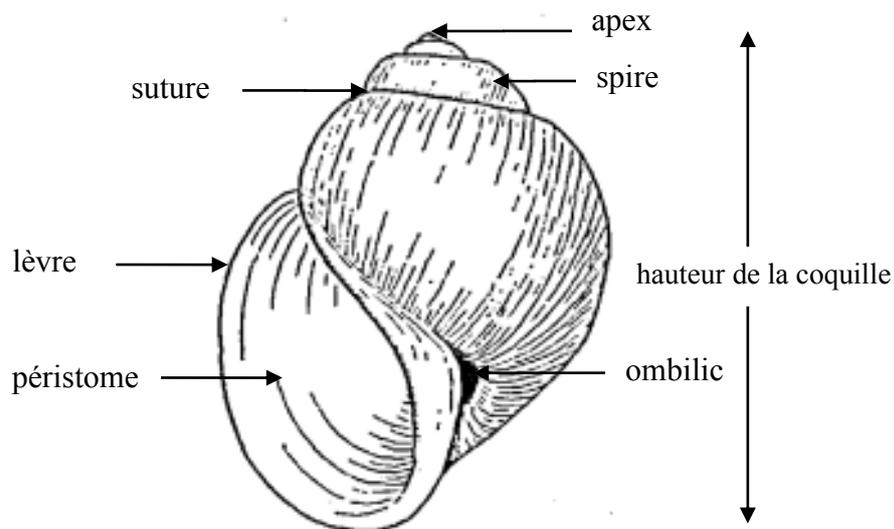


Figure 6: Morphologie générale de la coquille de *B. umbilicatus* (Mandahl-Barth, 1973), annoté

b) *B. senegalensis*

L'holotype de *B. senegalensis* a été découvert à Podor au Sénégal et mesurait 12 mm de hauteur et 5 mm de large mais des spécimens adultes peuvent atteindre 18 mm de hauteur. Les spires sont uniformément courbées et non carénées ; généralement lisses mais parfois striées. Les spires peuvent également être grandes, presque cylindriques ou considérablement larges. Les individus jeunes sont souvent confondus à *B. forskalii* par la morphologie de la coquille. La grande différence avec *B. forskalii* est l'absence d'épaulures sur les premiers tours de spires (figure 7).

Sa distribution géographique est principalement sahélienne. Il est très présent dans certaines mares latéritiques saisonnières formées par les pluies. Il est largement distribué en Gambie, au Sénégal, dans la moyenne vallée du fleuve Niger, au Nord-est du Nigeria et au Nord du Cameroun. Sa limite sud se situe probablement en Sierra Leone (Brown, 1994).

Il joue un rôle dans la transmission naturelle de *S. haematobium* en Gambie (Goll & Wilkins, 1984), au Sénégal (Diaw, 1986) et au Cameroun (Greer *et al* 1990).

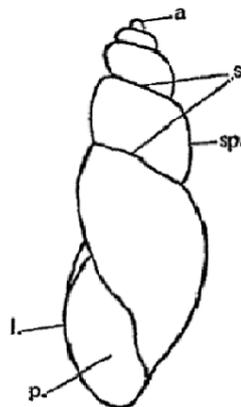


Figure 7 : Morphologie générale de la coquille de *B. senegalensis*

a : apex ; **l** : lèvre ; **p** : péristome ; **s** : suture ; **sp** : spire. (Duran & Lévêque, 1980)

I.3. DIAGNOSTIC DE *S. HAEMATOBIMUM* CHEZ L'HOMME ET LE BULIN

I.3.1. Diagnostic chez l'homme

Comme les symptômes, les méthodes de diagnostic sont aussi différentes au cours des différentes phases du cycle de développement du parasite.

a) Diagnostic indirect

Pendant la phase d'invasion et de croissance, la schistosomiase est rarement diagnostiquée car elle est souvent asymptomatique (il n'y a pas encore d'élimination d'œufs). Le diagnostic est alors indirect et permet de donner des indicateurs appréciables sur la présence du parasite. A ce stade, la détection du parasite repose généralement sur les techniques suivantes :

Les techniques immunologiques : elles permettent la mise en évidence d'anticorps ou d'antigènes circulants spécifiques libérés dans la circulation sanguine par les schistosomes au cours des différentes étapes de leur cycle de vie. La plupart des techniques de routine détectent les immunoglobulines (Ig) G, M ou E dirigés contre les antigènes solubles des vers ou les antigènes bruts des œufs. Les principales techniques sont : l'immunofluorescence indirecte, le test immuno-enzymatique ELISA et l'immunoélectrophorèse (Gryseels *et al.*, 2006). Elles sont beaucoup plus sensibles que les techniques parasitologiques directes mais ne peuvent distinguer l'historique de l'exposition de l'infection active. Leur application sur le terrain est difficile (Feldmeier & Poggensee, 1993).

Les tests de diagnostic rapide : ils détectent les antigènes de parasite dans l'urine. Les antigènes somatiques de schistosomes adultes, telles que l'antigène anodique circulant (AAC) et l'antigène cathodique circulant (CAA), peuvent être détectés et quantifiés avec des anticorps monoclonaux marqués dans le sérum ou l'urine des individus infectés.

Ces méthodes immunologiques sont peu spécifiques du fait de la possibilité de réactions croisées avec les antigènes d'autres helminthes (Rabello *et al.*, 1997).

Les bandelettes et les questionnaires simples : ce sont des outils bon marché, faciles et efficaces pour le dépistage de masse et l'évaluation épidémiologique rapide de la schistosomiase urinaire (Garba *et al.*, 2000, Lengeler *et al.*, 2002). Les bandelettes sont imprégnées de réactifs chimiques tels que le Sangur-test® ou Haemastix® (Bayer) et d'une échelle colorimétrique qui permet d'interpréter les niveaux d'hématurie (faible, moyenne ou forte) (Mott, 1983). Les questionnaires simples consistent à demander aux personnes interrogés la présence d'urine rouge.

b) Diagnostic direct

Pendant la phase de maturation, le diagnostic est basé sur des examens microscopiques d'échantillons d'urines frais. Les techniques les plus utilisées sont la technique de filtration et de centrifugation urinaire. Ces méthodes constituent le pilier pour le diagnostic de la schistosomiase urinaire (Feldmeier & Poggensee, 1993). Ils s'agissent principalement de :

- La technique de filtration urinaire de (Plouvier *et al.*, 1975) qui est couramment utilisée. C'est une technique très spécifique qui permet une évaluation quantitative de l'infection (nombre d'œufs de *S. haematobium* par litre d'urine). Cette technique nécessite des filtres en nylon, en polycarbonate ou

en papier montés sur un porte-filtre Millipore Swinnex13®, de diamètre variable. On prélève 10 ml d'urine que l'on fait passer à travers le filtre grâce une seringue à embouche centrale. Le filtre retient les œufs qui sont visibles sous le microscope après coloration avec une goutte de Lugol.

- La technique de concentration consiste à examiner le culot de sédimentation des urines après les avoir décantées pendant 24 heures et centrifugées à 1500 tours/minute pendant 3 à 4 mn.

Avec ces techniques standards, les œufs sont faciles à détecter et identifier par microscopie en raison de leur forme et de la position latérale ou terminale de leur épine caractéristique (figure 3). Ces techniques peuvent facilement détecter une infection à *S. haematobium* active chez les sujets qui ont des charges parasitaires élevées. Mais quand les infections ne sont pas intenses, la recherche d'œufs dans les urines peut être difficile en raison de la grande variation au jour le jour de l'excrétion ovulaire (van Lieshout *et al.*, 2000). Même lorsque la collecte et l'examen des urines sont répétés plus de cinq fois par jour, des cas positifs supplémentaires peuvent encore être trouvés (Engels *et al.*, 1996). Par conséquent, dans les zones de faible intensité ou pendant le suivi après le traitement, les prévalences peuvent être sous-estimées lors de l'application du protocole fréquemment utilisé à savoir un ou deux examens d'échantillons d'urine. Cependant, la collection de plusieurs échantillons d'urine par individu pose des problèmes logistiques et le coût est souvent élevé (De Vlas *et al.*, 1992).

c) Diagnostic biologique

Les méthodes de diagnostic clinique constituent des techniques complémentaires utilisées en milieu hospitalier. Ce sont :

- la biopsie rectale qui est plus utilisée pour les schistosomes intestinaux mais elle est aussi sensible pour l'infection due à *S. haematobium*.
- la cystoscopie et l'endoscopie qui sont utilisées pour visualiser les lésions de la vessie et les varices œsophagiennes.
- la laparoscopie qui permet de révéler l'aspect macroscopique et histologique de l'inflammation granulomateuse ou d'une fibrose péri-portale.
- la radiographie qui permet de visualiser la pathologie au niveau rénal, urétéral et vésical. Ces examens sont nécessaires pour évaluer l'extension des lésions mais leur utilisation nécessite une expertise et une expérience, et est sujet à beaucoup de variations entre les observateurs (Gryseels *et al.*, 2006).

c) Diagnostic moléculaire

De nouvelles techniques de biologie moléculaire ont été développées ces dernières années. Elles sont basées sur des marqueurs moléculaires permettant la détection par PCR de l'ADN des schistosomes. L'application de la PCR comme technique pour la détection de l'ADN de

S. haematobium a été explorée dans des échantillons d'urine (Amarir *et al.*, 2014), de sang (ten Hove *et al.*, 2008) et de sérum (Cnops *et al.*, 2013). La technique a été évaluée dans des situations d'intensité de l'infection faible et moyenne. Bien que ces méthodes soient avérées très sensibles et spécifiques, leur application est actuellement limitée, car elle nécessite d'importantes infrastructures, des ressources financières et du personnel qualifié (Pontes *et al.*, 2003).

I.3.2. Diagnostic chez le bulin

a) Tests d'infestations

Ce sont des diagnostics qui permettent de montrer avec certitude la présence du parasite chez les bulins par la mise en évidence des cercaires. Les principaux tests sont :

- le test d'émission des cercaires qui est l'approche la plus utilisée pour estimer la transmission de *S. haematobium* à l'homme. Pour évaluer l'infestation naturelle, les mollusques sont lavés, placés individuellement dans des piluliers contenant de l'eau et exposés à la lumière naturelle ou à une source lumineuse électrique pendant au moins 30 minutes (Diaw, 1997). Cette exposition à la lumière permet l'émission de cercaires de *Schistosoma* sp. par les mollusques naturellement infestés (figure 8). Mais la sortie des cercaires peut être très focale et de faible fréquence, même dans les zones où la transmission est intense (Ibrahim *et al.*, 2010). Elle peut aussi être affectée par plusieurs facteurs tels qu'une baisse de la température de l'eau qui augmente la période pré-patente de l'infection, et la forte mortalité des mollusques après excrétion dans le milieu naturel (Hamburger *et al.*, 2001).

- le test consistant à écraser les mollusques et à rechercher les larves de schistosomes est aussi utilisé mais il est moins précis et difficile à appliquer dans le cas d'un suivi à grande échelle des mollusques (Hamburger *et al.*, 2004).

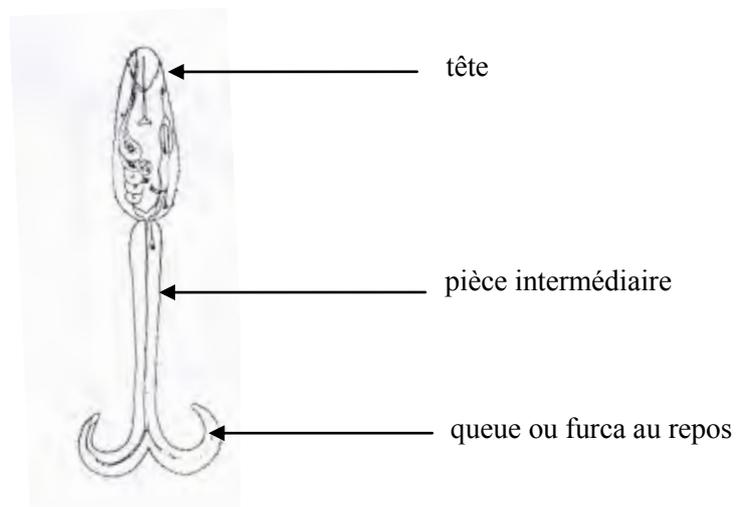


Figure 8 : Morphologie externe d'une furcocercaire de *Schistosoma* sp. (Diaw *et al.*, 1999), annoté

b) La détection des antigènes du parasite

L'étude de l'infestation des bulins peut aussi être réalisée par la détection des antigènes de schistosomes dans l'hémolymphe des mollusques. Cette technique est très sensible et est adaptée pour un suivi à grande échelle. Mais la détection d'antigènes sécrétés par les parasites en développement ne peut pas être utilisée comme un marqueur approprié pour une infection précoce, mais plutôt comme un indicateur d'infection patente (Hamburger *et al.*, 1989).

Ces tests ci-dessous ne peuvent pas discriminer *S. haematobium* d'autres parasites, en particulier *S. bovis* et *S. curassoni* qui sont des schistosomes du bétail et qui peuvent coexister dans les bulins naturellement infectés. Le diagnostic différentiel basé sur la morphologie pose souvent des problèmes. La différenciation peut être réalisée par chétotaxie en comparant les valeurs moyennes d'un ou de deux indices chaetotaxiques des cercaires (Albaret *et al.*, 1993) ou par la chronologie de l'émission des cercaires (Mouchet *et al.*, 1992).

c) Les techniques moléculaires

La présence de l'ADN du parasite chez le mollusque peut aussi être détectée par biologie moléculaire. La détection moléculaire de *S. haematobium* la plus utilisée est appelée la Dra1-PCR et est basée sur la mise en évidence par PCR d'une séquence de 121 paires de base hautement répétées en tandem (Hamburger *et al.*, 2001). En raison de l'abondance de la séquence, la PCR est très sensible et peut détecter de très faible quantité d'ADN (Hamburger *et al.*, 2001). Elle a été décrite pour la première fois au Kenya et utilisée pour un suivi à grande échelle de l'infestation naturelle de *B. nasutus*. Cependant, la séquence Dra1 est présente dans l'ADN d'autres schistosomes appartenant au même groupe que *S. haematobium* tels que *S. bovis* et *S. curasonni*. La technique est donc fortement recommandée dans les zones où ces autres espèces de schistosomes animales sont absentes ou rares (Hamburger *et al.*, 2004).

Le diagnostic de *S. haematobium* par des techniques spécifiques et sensibles est important dans l'évaluation des programmes de lutte et de contrôle de la maladie.

I.4. CONTRÔLE DE LA SCHISTOSOMIASE URINAIRE

Les principales stratégies de contrôle de la schistosomiase visent à empêcher au parasite de réaliser son cycle de vie complet. Le parasite peut alors être éliminé chez l'homme, chez le bulin hôte intermédiaire ou dans l'eau.

I.4.1. Contrôle chez l'homme

Chez l'homme hôte définitif, la chimiothérapie est la stratégie la plus utilisée. Plusieurs médicaments ont été proposés ou testés pour le traitement de la schistosomiase et plus tard abandonnés en raison des graves effets indésirables. Le praziquantel est le seul médicament sur la liste modèle des médicaments essentiels de l'OMS pour le traitement de la schistosomiase (Cioli *et al.*, 1995).

Il se présente sous forme de comprimés sécables de 600 mg. Son choix repose sur le fait qu'il est efficace contre toutes les espèces de schistosomes. Le médicament est administré par voie orale à une dose standard de 40 mg / kg de poids corporel. Les effets indésirables plus communs sont gastro-intestinaux, y compris douleurs des abdominales, des nausées, des vomissements et de la diarrhée. Ils sont généralement légers et durent moins de 24 heures (Sabah *et al.*, 1986). Tous ces atouts font que les options thérapeutiques actuelles sont limitées à ce médicament.

Des combinaisons avec d'autres médicaments sont actuellement utilisées dans le traitement de la schistosomiase urinaire. Ils s'agissent principalement :

- de l'Albendazole qui est administré pour le control simultané des helminthiases transmises par le sol ;
- des dérivés de l'Artémisinine qui sont actifs contre les stades hépatiques (immatures) du vers ;
- du Métrifonate dont la cible dans le parasite *S. haematobium* est différente de celle du Praziquantel. Cette combinaison offre une protection mutuelle de chaque médicament, et peut aussi ralentir ou empêcher le développement de la résistance (Zhang *et al.*, 2007).

La chimiothérapie par le praziquantel est destinée en particulier aux enfants d'âge scolaire (Magnussen *et al.*, 2001, WHO, 2002). L'hypothèse est que la réduction de la charge parasitaire dans l'enfance, pendant laquelle l'intensité de l'infection est plus élevée, empêcherait la plupart des complications à long terme qui se produisent plus tard dans la vie adulte. Cette stratégie permet d'avoir des gains rapides, mais sa planification à long terme est nécessaire pour assurer un contrôle efficace et durable.

Le traitement de masse par le praziquantel des populations infectées et à risque de l'infection est maintenant l'approche la plus utilisée par la plupart des programmes nationaux de lutte contre la schistosomiase. L'objectif principal de ces programmes est de réduire la morbidité en gardant à un niveau bas l'intensité de l'infection. Cette stratégie a été adoptée depuis 20 ans et les résultats obtenus ont montré qu'elle est faisable, sûre et efficace (Savioli *et al.*, 2004).

Cependant, pour que cette approche puisse avoir un impact à long terme sur la maladie, il faudrait qu'elle soit accompagnée d'une prophylaxie.

La prophylaxie est l'ensemble des mesures à prendre pour prévenir une maladie. Chez l'homme, elle est d'abord individuelle puis collective. La prophylaxie individuelle est la principale mesure à prendre pour se protéger de la schistosomiase en évitant toute immersion même partielle en eau douce (mares, marigots, rivières, fleuves etc.). Cette mesure d'hygiène personnelle est difficile à exiger aux populations rurales qui le plus souvent n'ont pas accès tout le temps à l'eau potable pour les activités domestiques courantes. La prophylaxie individuelle ne pourrait avoir un impact dans la lutte contre la maladie si elle n'est pas accompagnée d'une prophylaxie collective ou générale. Une prophylaxie collective devra impérativement comporter les actions suivantes : le traitement du réservoir humain du parasite (surtout les enfants en âge scolaire) au niveau des infrastructures sanitaires, des établissements scolaires et même dans les concessions ; l'amélioration du niveau d'hygiène des populations par l'assainissement, l'approvisionnement en eau et la construction des latrines ; l'amélioration des connaissances et la sensibilisation des populations.

Dans la plupart des pays endémiques, l'impact à long terme des traitements de masse sur la transmission est entravé par l'absence d'amélioration des conditions environnementales et de changements du comportement de l'homme. De ce fait, le retraitement régulier est donc nécessaire pour une période indéterminée. La durabilité est donc une condition essentielle pour le contrôle de la schistosomiase à base de chimiothérapie (WHO, 2002). Ce qui semble difficile à réaliser dans les pays à faibles revenus où il y a d'autres problèmes de santé qui sont prioritaires.

Pour cela, il est important de rechercher de nouvelles stratégies de lutte ciblée adaptées aux systèmes épidémiologiques locaux et programmées dans le temps. La lutte basée sur le contrôle des populations de mollusques et/ou de leurs biotopes est donc une composante à redynamiser.

I.4.2. Contrôle des mollusques

Même si le praziquantel permet d'aboutir à un taux de guérison élevé, une nouvelle exposition aux mollusques infectés dans l'environnement conduit à une ré-infection plus ou moins rapide des personnes traitées dans les zones endémiques (Fenwick *et al.*, 2006, King, 2006).

Le contrôle de la population de mollusques est alors nécessaire pour consolider les acquis du traitement. Cette approche était largement utilisée pour lutter contre la schistosomiase avant l'avènement du praziquantel. C'est une stratégie qui vise à réduire le nombre de larves parasites dans l'eau afin de diminuer efficacement la prévalence et l'intensité de la ré-infection. Les principaux types de lutte malacologique sont :

- La lutte chimique qui consiste à contrôler les populations de mollusques par l'application de produits chimiques appelés molluscicides. Les molluscicides sont, soit d'origine chimique (Nuclosamide, Bayluscide®), soit d'origine végétale tel que l'Endod. Pour être efficace, un molluscicide doit répondre à trois critères, à savoir être dépourvue de toxicité vis-à-vis d'autres organismes aquatiques, ne pas entraîner des effets indésirables inacceptables et être conservé dans de bonnes conditions de stabilité (OMS, 1985). En raison des difficultés liées à son utilisation, de son coût élevé, et des conséquences écologiques, la lutte chimique n'est plus utilisée dans de nombreux programmes nationaux de lutte contre la schistosomiase.

- La lutte biologique qui utilise des organismes compétiteurs ou prédateurs afin de pouvoir interrompre le cycle parasitaire par la destruction des principaux mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes (Pointier *et al.*, 1989). Cette forme de lutte biologique est entrain d'être redynamisée en Afrique de l'Ouest. Au Sénégal par exemple, le potentiel de lutte biologique contre les mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes par les crevettes d'eau douce prédateurs du genre *Macrobrachium* a été expérimenté dans la vallée du fleuve Sénégal. L'espèce de crevette utilisée est *Macrobrachium vollehovienii*, une crevette originaire de rivières et cours d'eau de l'Afrique de l'Ouest (Sokolow *et al.*, 2013). Par ailleurs, *Macrobrachium rosenbergii*, une espèce asiatique du même genre est connue comme un grand consommateur d'escargots hôtes intermédiaires des schistosomes (Lee *et al.*, 1982). Les résultats sont prometteurs dans la vallée du fleuve Sénégal car la crevette a révélé une grande voracité contre tous les stades de développement des mollusques. Mais elle a une faible préférence des mollusques du genre *Bulinus* par rapport à ceux du genre *Biomphalaria*. Ce qui suggère un contrôle plus efficace de la schistosomiase intestinale par rapport à la schistosomiase urinaire (Sokolow *et al.*, 2013). Cependant leur capacité de prédation n'a jamais été évaluée dans les mares et les marigots temporaires exclusivement colonisés par les bulins. L'inconvénient de cette technique réside dans le fait que l'assèchement de ces points d'eau nécessite un repeuplement continu des crevettes ce qui à la longue risque de poser un frein économique à cette méthode de lutte.

Des actions prophylactiques peuvent être exercées chez les populations de mollusques, dans leur milieu de vie. Ils s'agissent d'irrigation par canaux couverts, d'assèchement périodique des canaux d'irrigations à ciel ouvert, de destruction des végétaux dont se nourrissent les mollusques, de désherbage régulier avec peut-être d'une modification périodique du niveau de l'eau dans les canaux (Coulibaly, 2000). Cette approche semble être la plus facile mais malheureusement elle est la moins employée.

Les objectifs et stratégies de lutte contre la schistosomiase ont fondamentalement changé depuis l'introduction du praziquantel. Comme pour d'autres maladies parasitaires, le contrôle de la

transmission visant à éliminer l'hôte intermédiaire a été largement remplacé par celle de la morbidité par la chimiothérapie basée sur la population humaine (Garba *et al.*, 2006). Le praziquantel est de plus en plus utilisé en masse par de nombreux programmes nationaux de lutte des pays endémiques en Afrique Sub-saharienne notamment au Sénégal où depuis 2012, des campagnes de traitement de masse ont été entreprises dans plusieurs districts sanitaires.

I.5. LA SCHISTOSOMIASE URINAIRE AU SENEGAL

- Quelques traits physiques du pays

Le Sénégal est situé à l'extrémité Ouest du continent africain, entre les latitudes 12°00 et 16°30 Nord et les longitudes 11°30 et 17°30 Ouest, sur 196 720 kilomètres carrés. Le pays se situe dans la zone intertropicale. Au plan écogéographique, le pays peut être subdivisé en six grands domaines climatiques que sont du Nord au Sud :

- le domaine sahélien correspondant à la zone sylvopastorale, caractérisé par une végétation arbustive et arborée d'épineux avec un climat sahélien presque désertique couvrant la zone de la vallée du fleuve Sénégal et le lacs de Guiers (régions de Saint-Louis et une partie de Louga) ;
- le domaine sahélo-soudanien, marqué par une savane boisée et arbustive et un climat de type continental sec, dans lequel se trouvent les régions de Louga, Diourbel, Dakar, Thies et la partie Nord de la région de Fatick (Sine) ;
- le domaine soudano-sahélien intermédiaire, qui se distingue par une savane boisée et arbustive avec un climat moins chaud et moins sec, où se localise la zone écologique du Sine-Saloum ;
- le domaine soudanien, caractérisé par une végétation de type forêt claire couvrant les régions de Kaolack (Saloum), Tambacounda et une partie sud de la région de Fatick ;
- le domaine soudano-guinéen, marqué une forêt dense humide, localisé en haute Casamance dans la région de Kolda ;
- le domaine sub-guinée, localisé principalement dans la région de Ziguinchor en basse Casamance avec également une forêt humide très dense composée de grands arbres (figure 9).

Le réseau hydrographique comprend trois grands fleuves que sont le Sénégal, la Casamance, la Gambie et des affluents auxquels s'ajoutent quelques cours d'eau et plusieurs mares permanents ou temporaires. La zone du fleuve Sénégal est partagée en bassin et delta, siège d'importants barrages et aménagements hydro-agricoles. Ce réseau favorise la transmission de certaines maladies notamment les schistosomiasés.



Figure 9 : Les grands domaines climatiques du Sénégal (Disponible sur : http://www.cartographie.ird.fr/SenegalFIG/senegal_pdf/Senegal.pdf. Consulté le 24/09/2014)

Au Sénégal, environ 8,5 millions de personnes sont exposées au risque d'infection par la schistosomiase intestinale et urinaire (Chitsulo *et al.*, 2000). En 2011, on estime à environ 1,3 millions, le nombre d'enfants en âge scolaire qui sont atteints par la schistosomiase urinaire, soit une prévalence nationale moyenne de 25,1 % (Schur *et al.*, 2011).

Les foyers de transmission de *S. haematobium* appartiennent principalement à deux systèmes épidémiologiques :

Les systèmes à foyers de transmission permanente qui couvrent à l'heure actuelle une superficie réduite puisqu'ils sont limités principalement au niveau de la vallée du fleuve Sénégal, dans les aménagements hydro-agricoles qui en découlent, au niveau du Lac de Guiers et quelques foyers dans la région de Kédougou et Kolda. Dans ces foyers, *S. haematobium* coexiste au niveau de

certains villages avec *S. mansoni* (Ernould, 1996). Ces systèmes sont caractérisés par une présence d'eau permanente ou quasi-permanente ; des populations de mollusques variées, constituées de genres *Bulinus* et *Biomphalaria*, en grand nombre et relativement stables d'une année à l'autre ; des prévalences et des charges ovulaires chez les populations qui sont très élevées en particulier chez les enfants en âge scolaire (Webster *et al.*, 2013).

Les foyers à mares et marigots temporaires qui couvrent une superficie très importante car répartis dans presque tout le pays notamment dans la zone soudano-sahélienne où ils sont les seuls et uniques points de transmission. Ces foyers sont très peu étudiés (Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992b, Ndir, 2000) et sont caractérisés par une mise en eau brève de 4 à 5 mois dépendant de la pluviométrie ; des populations de mollusques peu diverses, constituées particulièrement du genre *Bulinus*, dont les densités varient considérablement d'une année à l'autre puisqu'elles sont soumises à des conditions climatiques sévères et aléatoires ; des prévalences et des intensités d'infestation, généralement, plus faibles que dans les foyers à transmission continue mais qui deviennent de plus en plus importantes en raison de l'absence de traitement.

La schistosomiase urinaire est la plus répandue au Sénégal (Ndir, 2000). C'est la parasitose la plus ancienne car le premier foyer a été découvert en 1908 à Bakel dans la partie Nord-est du pays au niveau de la vallée du fleuve Sénégal avec 20 cas de bilharziose vésicale rapportés (Diallo, 1965). Par la suite, de nombreux travaux sur des cas cliniques de schistosomiase uro-génitale ont été réalisés avant et après la seconde guerre mondiale (Becker & Collignon, 1994).

L'enquête parasitologique nationale la plus récente de 2000 avait mis en évidence l'endémicité de la schistosomiase urinaire au Sénégal (Ndir, 2000).

Cette maladie est un grand problème de santé publique surtout dans la vallée du fleuve Sénégal où les aménagements hydro-agricoles ont entraînés sa propagation. Les prévalences sont élevées et peuvent aller jusqu'à plus de 95 % dans certains villages (Webster *et al.*, 2013). Dans la région de Kédougou la maladie constitue aussi un problème car les prévalences varient entre 4% et 80% (Sy *et al.*, 2008). Une autre étude plus récente avait aussi rapporté une prévalence moyenne nationale de 25,1% (Schur *et al.*, 2011).

Quatre mollusques hôtes intermédiaires assurent la transmission de *S. haematobium*.

- *B. globosus* est plus fréquent et abondant dans les régions de Kolda, Tambacounda au niveau des mares et marigots et peut résister à l'assèchement de ces points d'eau. Il existe aussi dans les autres régions, mais il est très rare.

- *B. umblicatus* est habituellement rencontré dans les régions de Saint-Louis et Tambacounda,

principalement dans les mares temporaires à fond latéritique ou argilo-latéritique. Quelques spécimens sont rencontrés à Kolda. A notre connaissance, il n'avait pas encore été signalé dans le Sine-Saloum (Fatick et Kaolack).

- *B. truncatus* est très répandu dans le delta du fleuve Sénégal et autour du lac de Guiers (Diaw, 1986).

Sa participation dans la transmission de *S. haematobium* a été récemment confirmée dans la moyenne vallée du fleuve Sénégal (Sène *et al.*, 2004).

- *B. senegalensis* couramment rencontré dans les régions de Saint-Louis (Vallée du fleuve Sénégal), Tambacounda, Kaolack et Fatick. On le rencontre surtout dans les biotopes latéritiques (mares et marigots temporaires).

Une étude sur la répartition géographique de la schistosomiase urinaire au Sénégal réalisée par Global Atlas of Helminth Infections a montré qu'en dehors des régions de Dakar et Thiès, où les prévalences varient de 0 à 10%, toutes les autres régions ont des prévalences focales de la schistosomiase urinaire supérieures à 50% (GAHI, 2012) (figure 10).

Dans la région de Fatick, les prévalences de la schistosomiase urinaire ne cessent d'augmenter à cause de l'absence de traitements réguliers à l'image de la vallée du fleuve et à Banda Fassi dans la région de Kédougou. En effet, en 1996, lors de l'enquête nationale réalisée par le Service de Parasitologie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, les prévalences variaient de 3% à 31% dans certains villages de la région (Ndir, 2000). Des études plus récentes ont montré dans d'autres localités de la région une augmentation des prévalences à 39,6% en 2007 (Seck *et al.*, 2007) et à plus de 50% en 2012 (GAHI, 2012).

L'évolution des prévalences montre clairement que la schistosomiase urinaire constitue aujourd'hui un problème de santé publique dans la région de Fatick notamment à Niakhar où une étude antérieure avait rapporté dans deux villages une prévalence de plus de 50% chez des enfants en âge scolaire (Akiana, 2003).

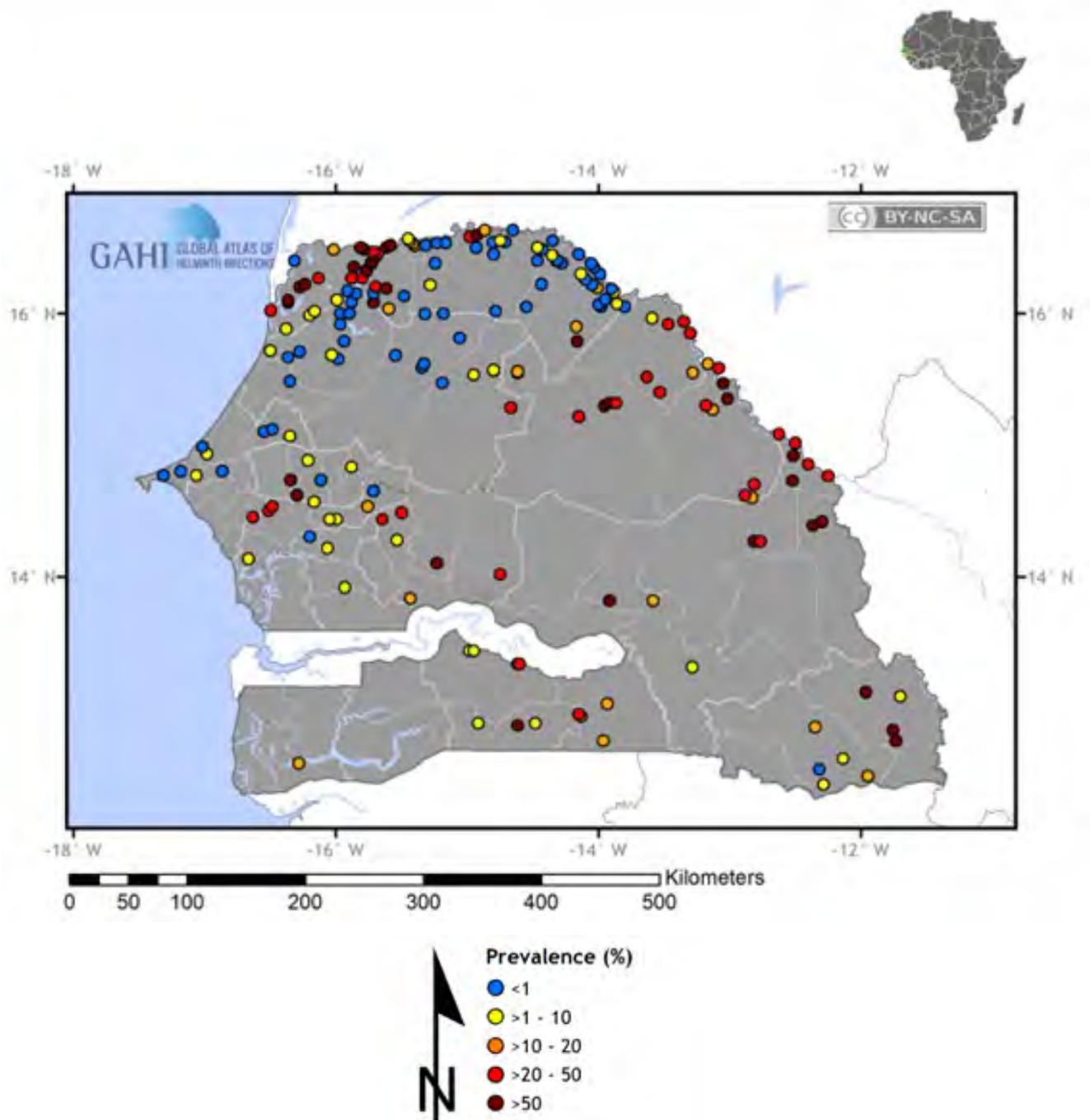


Figure 10 : Répartition géographique de la schistosomiase urinaire au Sénégal (GAHI, 2011) (Disponible sur : <http://www.thiswormyworld.org/maps/2013/distribution-of-s-haematobium-survey-data-in-senegal>. Consulté le 24/09/2014)

CHAPITRE II : DYNAMIQUE DE TRANSMISSION DE LA SCHISTOSMIASE URINAIRE A NIAKHAR

PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

La schistosomiase urinaire constitue un problème de santé majeur dans les zones rurales où les populations n'ont pas régulièrement accès à l'eau potable pour leurs activités domestiques.

Dans un contexte actuel de recherche de méthodes de contrôle et d'élimination de la schistosomiase urinaire au Sénégal, une bonne compréhension de la dynamique des populations des mollusques vecteurs et du fonctionnement des foyers de transmission sont d'une importance capitale pour l'élaboration de stratégies de lutte contre la schistosomiase.

Après la déclaration de l'épidémie de la schistosomiase intestinale à Richard Toll (Talla *et al.*, 1990, Picquet *et al.*, 1996), l'épidémiologie et la dynamique de ré-infection des populations humaines par *S. haematobium* et *S. mansoni* ont été bien documentées dans de nombreux villages le long de la vallée du fleuve Sénégal. Les résultats des enquêtes réalisées dans ces villages ont montré que 3 à 6 mois après guérison par le praziquantel, les taux de ré-infection étaient élevés et pouvaient dans certains cas atteindre les prévalences de départ (Shaw *et al.*, 1999, Webster *et al.*, 2013). Ce caractère continu de la transmission rend difficile l'élaboration de programmes adaptés et efficaces à long terme pour l'élimination de la schistosomiase malgré de nombreuses années de traitement de masse dans ces villages.

En contraste, dans les autres villages situés dans les régions centrales, où seulement *S. haematobium* est présent avec une transmission strictement saisonnière, aucune étude n'a été réalisée sur l'efficacité des traitements par le praziquantel et la dynamique de transmission de la schistosomiase urinaire chez l'homme et les mollusques hôtes intermédiaires.

La grande question reste à savoir s'il est possible avec les traitements de masse répétés d'éliminer la schistosomiase dans les foyers à transmission saisonnière au Sénégal ?

Pour répondre à cette question, nous avons choisi de mener une étude de la dynamique de transmission de la schistosomiase urinaire sur une cohorte d'enfants et d'adultes pendant 3 années de traitement annuel répétés dans le foyer temporaire de Niakhar.

La zone d'étude de Niakhar se situe dans la région de Fatick au cœur de la zone écologique du Sine-Saloum, caractérisée par une longue saison sèche de Novembre à Juin et une courte saison des pluies de Juillet à Octobre. Une bonne partie de la population n'a pas accès à l'eau courante. Les puits sont peu nombreux, profonds et parfois éloignés dans certains villages. L'eau des robinets et de la plupart des puits ont un taux de fluor supérieur aux normes et les nappes d'eaux douces souterraines sont parfois salées. Pendant la saison sèche, les seules sources d'eau des populations pour les activités domestiques restent les robinets publics et les puits. Pendant la saison des pluies, de nombreuses mares naturelles ou artificielles et un marigot proches des concessions se forment et

peuvent continuer à garder de l'eau pendant 1 à 2 mois après les pluies. Dès leur mise en eau et jusqu'à leur assèchement, les puits et les robinets sont moins utilisés. Pour se soustraire de la longue corvée et de la cherté de l'eau de robinet, les populations se tournent vers les mares et le marigot pour la plupart de leurs activités domestiques. Ces points d'eau sont donc fortement fréquentés pendant l'hivernage par les populations en particulier les enfants en âge scolaire pour les activités récréatives.

La zone d'étude de Niakhar est un grand observatoire de santé et de population. De nombreuses investigations ayant pour objectif de contrôler les endémies ou des problèmes de santé y sont menées depuis plus d'une quinzaine d'années. Cependant, des études sur la schistosomiase urinaire étaient quasi-inexistantes. A notre connaissance, une seule étude sur la susceptibilité au paludisme chez les enfants co-infectés par les helminthes intestinaux et urinaires avait été menée dans deux villages de la zone d'étude de Niakhar. Une prévalence moyenne élevée de *S. haematobium* de 66,5% a été rapportée (Akiana, 2003, Briand *et al.*, 2005). De nombreux cas d'hématurie macroscopique étaient par ailleurs souvent rapportés dans les villages par les enquêteurs démographiques de l'institut de recherche pour le développement (IRD). Aucun traitement de masse n'a été administré aux populations avant 2012 du fait de l'absence de données de prévalences à l'échelle de Niakhar. Des études de dynamique des mollusques hôtes intermédiaires visant à comprendre le fonctionnement de ces foyers étaient inexistantes malgré la présence de nombreux biotopes favorables au développement des bulins hôtes intermédiaires de *S. haematobium*. La connaissance de la distribution et de la saisonnalité de l'abondance des mollusques pourrait servir à l'établissement d'un programme de lutte.

L'existence d'un observatoire à Niakhar offrant un bon dispositif d'étude populationnel, environnemental et socioculturel ainsi que l'installation d'un laboratoire, nous ont permis de réaliser cette thèse qui comporte trois volets :

Le premier volet est parasitologique et porte sur l'étude de la schistosomiase urinaire chez les populations humaines. Cette partie du travail a été entièrement réalisée sur le terrain et au laboratoire de l'URMITE à Niakhar. Les principaux objectifs étaient :

- de mesurer l'ampleur de la parasitose dans la zone en étudiant la prévalence et l'intensité de l'infestation chez des écoliers ;
- d'évaluer l'efficacité d'une seule dose de praziquantel dans ce foyer unique à *S. haematobium* et son impact sur la prévalence, l'intensité de l'infection et la reinfestation sur un cycle de transmission ;

Le deuxième volet est malacologique et concerne l'étude des bulins hôtes intermédiaires. Une partie de ce volet a été réalisée sur le terrain et au laboratoire de Niakhar. L'objectif de cette étude malacologique était d'identifier morphologiquement les bulins hôtes potentiels de

S. haematobium, d'étudier leur distribution et leur dynamique ainsi que leur niveau d'infestation par le parasite afin de déterminer leur rôle dans la transmission de la maladie.

L'autre partie s'est déroulée au Laboratoire de Parasitologie-Mycologie à la faculté de Pharmacie de l'Université de Limoges (France) au sein de l'UMR 1094 INSERM. L'objectif était de confirmer l'identification morphologique des bulins par une caractérisation moléculaire et de mettre en place une technique de détection par PCR de l'ADN du parasite *S. haematobium* dans les bulins hôtes intermédiaires.

Le troisième volet est opérationnel afin de proposer une stratégie de lutte adéquate contre la schistosomiase urinaire. Ce dernier volet qui revêt un caractère épidémiologique, fait le lien entre la parasitologie et la malacologie. Le but était de voir l'effet d'un traitement annuel par le praziquantel administré à une cohorte d'enfants et d'adultes pendant 3 ans sur la dynamique de la transmission en relation avec le système de mares et marigot temporaires en vue de proposer des stratégies de contrôle efficaces et durables.

II.1. ZONE D'ETUDE ET METHODOLOGIE

II.1.1. Zone d'étude

II.1.1.1. Caractéristiques générales de la zone d'étude de Niakhar

La zone d'étude de Niakhar (14°58'N - 16°58'W) est située au Sénégal dans la région de Fatick au cœur du Sine-Saloum, à 150 km au sud de la capitale Dakar (figure 11).

Le climat est de type sahélo-soudanienne caractérisé par une longue saison sèche de Novembre à Juin et une courte saison des pluies de Juillet à Octobre. Les températures ont de faibles amplitudes moyennes mensuelles. Les moyennes mensuelles extrêmes sont de 24°C pour les mois les plus frais (Décembre et Janvier) et 30°C pour les mois les plus chauds (Mai et Juin). La pluviométrie moyenne annuelle est passée de 800 mm dans les années 1950 à 500 mm dans les années 1980. Aujourd'hui, on note un retour plus ou moins normal de la pluviométrie dans la zone. Des quantités croissantes de précipitations ont été observées à partir de l'année 2000, avec une pluviométrie moyenne annuelle de 600 mm entre 2005 et 2010 (Delaunay *et al.*, 2013). L'évolution de la pluviométrie dans la zone de 2010 à 2013 montre que la saison des pluies débute en Juin et prend fin en Octobre (figure 12). La pluviométrie moyenne annuelle entre 2010 et 2013 est de 611,4 mm. Les quantités maximales de pluies sont généralement enregistrées dans le mois d'Août. L'année 2013 était la plus pluvieuse. Dès le mois d'Octobre il y a une baisse très brusque de la pluviométrie et un à trois mois plus tard, tous les points d'eau qui s'étaient formés deviennent secs. Un système d'observation des eaux de surface à permis de cartographier le dynamisme des zones inondables et a

montré que les eaux de surface sont constituées par un marigot et de nombreuses mares temporaires qui se forment par les eaux de pluies. Le marigot aussi appelé zone inondable ou "Bill Bill" en langue sérère est long de 15 km environ et sépare la zone en deux parties du Nord-est au Sud-est en plein hivernage.

La zone regroupe 30 villages couvrant une superficie de 203 km². En 2012, la population était de 43 664 habitants avec une densité moyenne d'environ 214 habitants au km². La zone est caractérisée par un taux de fécondité élevé de 6,4 naissances par femme en 2011 (Biuatti, 2012).

Les caractéristiques individuelles (sexe, âge, groupe ethnique, religion et état civil) sont collectées pour chaque résident. Au sein de la population, le groupe ethnique Sérère est largement majoritaire (96,7%). Les autres groupes ethniques présents dans la zone sont les Wolofs (1%), les Toucouleurs (1%), les Laobés (0,5%) et les Peuls, Maures, Socés, et Diolas qui représentent 0,8%.

Le niveau d'éducation est faible: 50% des hommes et 75% des femmes qui ont un âge compris entre 15 et 24 ans n'ont jamais reçu de formation scolaire (Delaunay *et al.*, 2013).

Les activités économiques sont essentiellement basées sur la culture du mil et de l'arachide mais aussi sur l'élevage. La crise agricole du sahel et la pression démographique ont entraîné un développement de nouvelles activités économique basée sur la production de viande et les migrations temporaires vers les régions urbaines.

En 2003, environ 2/3 de la population n'avait pas accès à l'eau potable (Levi & Adyamagbo, 2003). Aujourd'hui, la disponibilité des forages et fontaines publiques a augmenté au cours des dernières décennies et 60% des ménages ont accès à l'eau du robinet à domicile ou à l'extérieur. La construction et l'utilisation des latrines est très faible. Seulement 22% des ménages ont accès à l'assainissement (Delaunay *et al.*, 2013). Les infrastructures sanitaires sont assez faibles. Les centres de santé sont inégalement répartis sur l'ensemble de la zone. On y compte 3 dispensaires localisés dans les villages de Toucar, Ngayokhem et Diohine. Le recours aux praticiens traditionnels est encore répandu et est en cohabitation avec les structures sanitaires (Chippaux, 2005).

Depuis plus de 30 ans, les villages de la zone d'étude ont fait l'objet d'une surveillance démographique, épidémiologie et environnemental (SSDEE), faisant de la zone un observatoire de population et de santé. Les personnes, résidentes dans ces villages, sont toutes identifiables à travers un numéro dans une base de données. Des informations sur les naissances, parentés, lieux de résidence, déplacements hors de la zone, et décès dont la cause est systématiquement recherchée a posteriori par autopsie verbale, sont régulièrement notées dans une base informatisée.

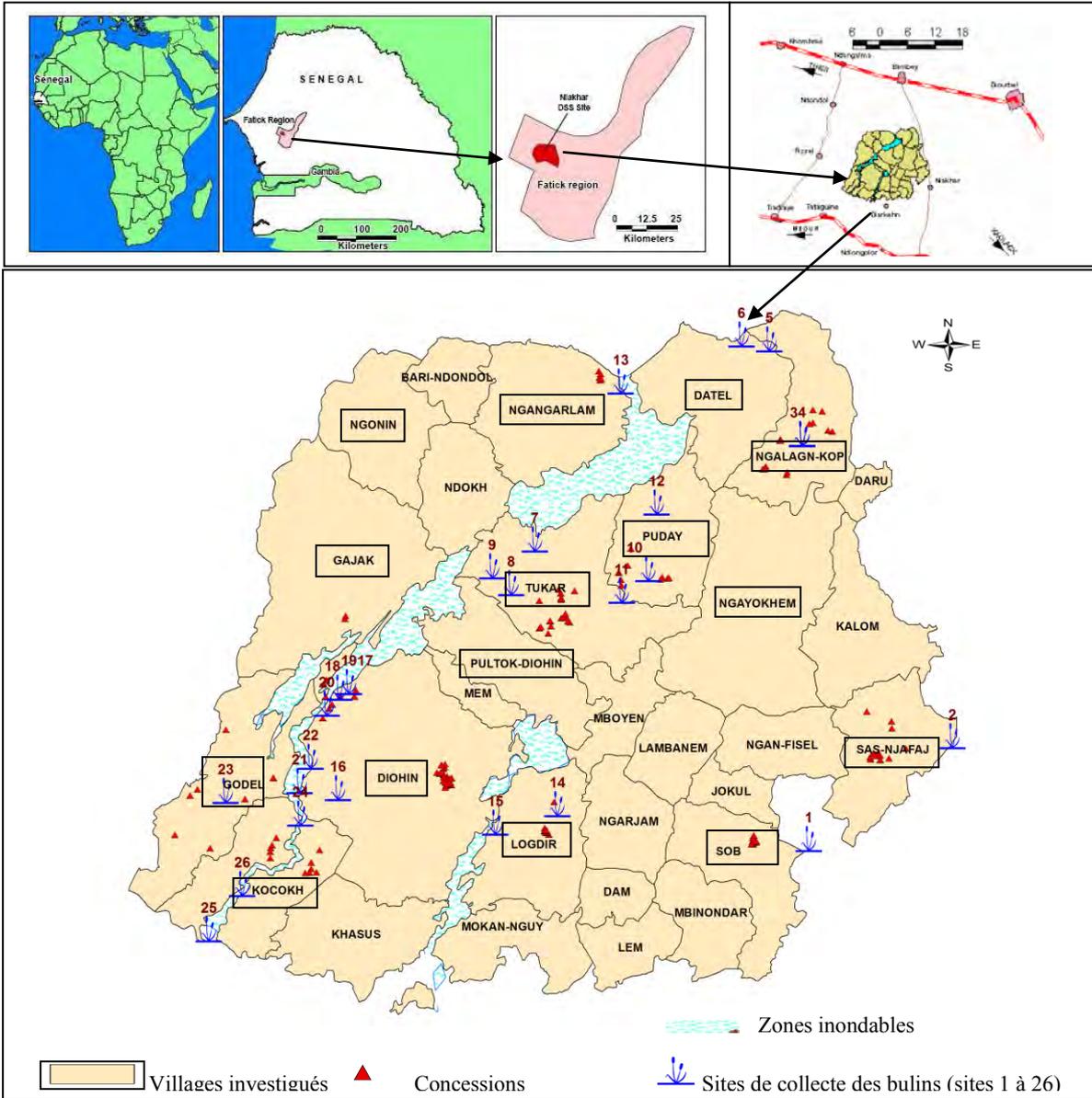


Figure 11 : Localisation de la zone d'étude avec les villages, les concessions enquêtées et les sites d'échantillonnage des bulins. (D'après Courrer & Arcens, 2001, modifié)

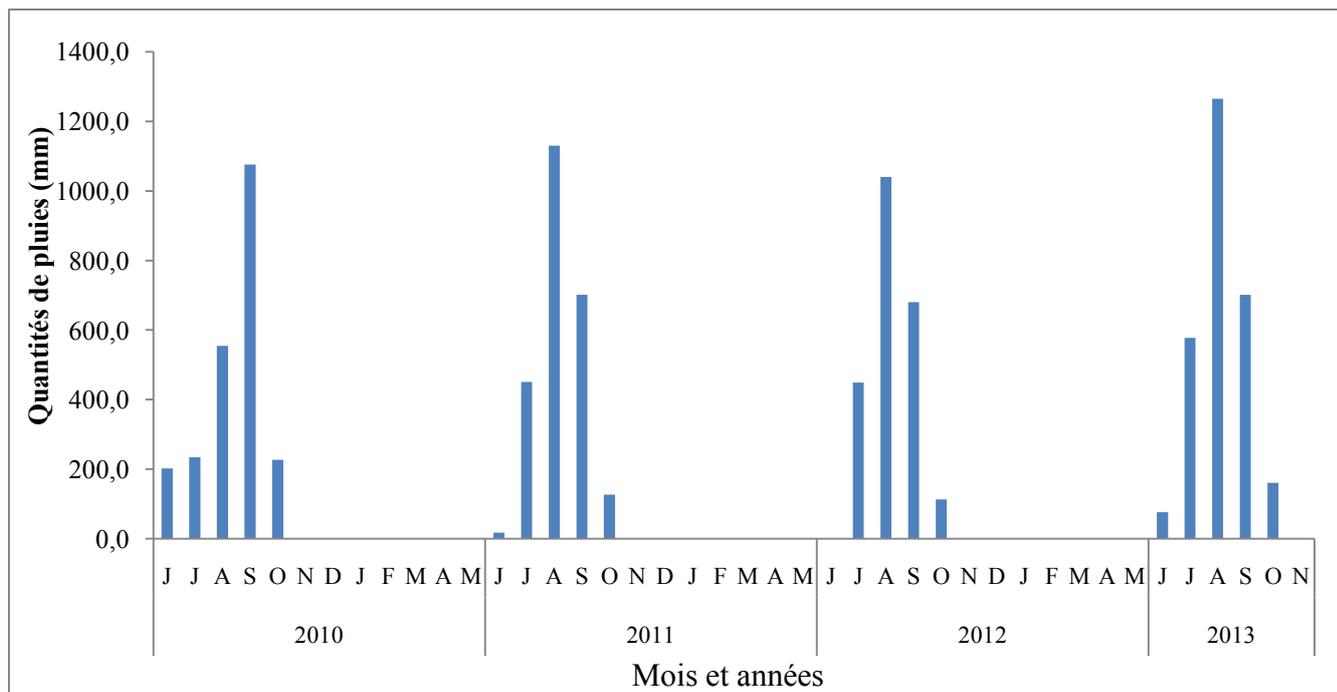


Figure 12 : Pluviométrie totale mensuelle dans la zone d'étude de Niakhar de 2010 à 2013

La plupart des activités humaines nécessitant de l'eau (lessive, baignade, pêche, abreuvement et lavage d'animaux) se déroulent au niveau du marigot et des mares temporaires de Juillet à Novembre voire Décembre (figure 13). Entre Novembre et Décembre, la plupart des mares ne garde qu'une petite flaque d'eau et ne sont plus fréquentées (figure 14). A la fin du mois de Décembre jusqu'au mois de Juillet, tous les points d'eau sont à sec (figure 15).

L'épidémiologie de la schistosomiase urinaire à Niakhar est très peu documentée. Une étude portant sur la coinfection bilharziose et paludisme a été réalisée à Toucar et Diohine qui sont deux villages de la zone d'étude. La prévalence de *S. haematobium* était de 67,3% (Akiana, 2003). Aucun traitement de masse n'a été administré dans la zone avant 2012.

La transmission se fait uniquement dans le marigot et les mares temporaires. Aucune étude malacologique montrant le rôle des bulins hôtes intermédiaires dans la transmission de *S. haematobium* n'a été réalisée dans la zone.



Figure 13: Baignade dans une mare en pleine saison des pluies (Août 2013)



Figure 14 : Mare avec une petite flaque d'eau à Niakhar (Novembre 2013)



Figure 15 : Mare à sec à Niakhar (Décembre 2013)

II.1.1.2. Description des villages suivis

Onze villages de la zone d'étude de Niakhar ont été sélectionnés et suivis lors de cette étude.

Gajak

C'est un des plus grands villages de la zone. Il est situé à l'extrême Ouest à plus de 25 km de la station de Niakhar. La population est de 3 223 habitants. Les enfants de 3 à 15 ans représentent 36,3% de la population. C'est dans ce village que se limite actuellement le marigot qui provient du Sud de la zone. L'eau de la partie du marigot qui entre dans le village est douce mais ces trois dernières années il y a de plus en plus une remontée saline en provenance du sud à la fin de la saison des pluies. Il n'y a pas de robinet dans le village et en plein hivernage, la plupart des puits sont complètement remplis par les eaux de pluies. Le marigot est la seule source d'eau que les populations utilisent pendant l'hivernage pour divers activités domestiques et les baignades pour les enfants. Après l'hivernage, l'eau peut rester jusqu'à Décembre voire Janvier. Des barrages sont construits par endroit pour pêcher les petits poissons du genre *Tilapia*. Le marigot passe au milieu du village et la plupart des sites de baignades (17 à 20 sites) sont très proches des concessions. Le site le plus proche (site 20) se situe à 50 m et le plus loin (site 17) n'est qu'à 264 m.

Godel

Ce village est situé à l'extrême Sud-ouest de la zone à côté de celui de Gajak. La population est de 1 623 habitants. Les enfants de 3 à 15 ans représentent 36,6% de la population. C'est aussi un village qui n'a pas accès à l'eau potable mais de nombreux puits sont utilisés par les populations pendant l'hivernage. La partie du marigot qui passe à côté du village est salée et dénudée de végétation aquatique. Deux sites (21 et 22) qui sont respectivement à 608 m et 987 m des concessions sont très fréquentés par les enfants pour les baignades et pour la pêche. A l'intérieur du village, une grande mare (site 23) située presque au milieu à 300 m des concessions est très utilisée pour les baignades et la lessive.

Kocokh

Ce village est situé à l'extrême Sud de la zone. Il est aussi très éloigné de la station IRD de Niakhar (plus de 30 km). La population est de 1 770 habitants. Les enfants de 3 à 15 ans représentent 37,1%. L'accès à l'eau dans ce village est très faible. Un seul puits construit au niveau de l'école primaire est fonctionnel et c'est la seule source d'eau de boisson des populations. Ce village est

divisé en deux par le marigot en plein hivernage on ne peut y accéder sans traverser l'eau dont la profondeur dépasse 1 m par endroit. Autrefois, l'eau du marigot était utilisée pour la boisson et des activités maraichères dans ce village. Aujourd'hui toute la partie qui traverse le village est salée et est seulement utilisée pour les baignades et la pêche. Les deux sites les plus fréquentés pour les baignades (site 24 à 26) sont peu éloignés des concessions (800 m et 1 112 m respectivement). Le site le plus reculé (site 26) se situe à 2590 m. Ces sites sont aussi fréquentés par les populations riveraines du village de Godel.

Ngangarlam

C'est un village de superficie moyenne qui est situé à la limite Nord-ouest de la zone. Il compte 2 115 habitants dont 37,9% sont des enfants âgés de 3 à 15 ans. Le village est aussi très éloigné de la station et n'a pas accès au branchement de robinet. Le nombre de puits est très réduit et ils sont affectés par le fluor et le calcaire. La mare la plus fréquentée du village (site 13) se situe à 433 m des concessions et est très utilisée par les femmes pour la lessive et les enfants pour les baignades et jeux. Elle est aussi fréquentée par les populations des villages riverains et par les animaux. En pleine hivernage, la mare déborde et occupe une grande espace non cultivable. Il existe aussi d'autres petites mares qui sont aussi utilisées pour la lessive mais elles sont éloignées de concessions enquêtées et peu fréquentées.

Ngalagne kop

C'est un village situé au Nord pas loin de l'axe routier Niakhar-Bambey. La population est de 1 291 habitants avec 37,1% représentées par les enfants de moins de 3 à 15 ans. Les puits et les robinets sont nombreux et sont bien réparties dans chaque quartier. Mais c'est le village de la zone qui compte le plus grand nombre de mares (plus de 7). Deux des mares les plus fréquentées (site 3 et 4) se situent au milieu du village à moins de 300 m des concessions. En pleine saison des pluies, elles sont très utilisées pour la lessive et les baignades. Les mares (site 5 et 6) qui sont éloignées (plus de 2 000 m) sont utilisées par les bergers et les animaux mais aussi les populations du village limitrophe de Dattel. La particularité du village de Ngalagne Kop est que toutes les mares sont à sec dès la fin du mois d'octobre.

Poudaye

C'est un petit village qui se trouve à proximité de celui de Ngalagne Kop. La population est de 1 454 habitants. Les plus jeunes (3 à 15 ans) représentent 36,7 % de la population. Des puits et robinets publics existent aussi dans quelques quartiers mais ne sont pas beaucoup sollicités par les

populations pendant l'hivernage. Les mares sont aussi nombreuses et très grandes. La plupart sont des carrières (site 8 et 9), très proches des concessions (50 m environ) et peuvent garder l'eau jusqu'en fin Décembre. Elles sont fortement fréquentées par les femmes pour la lessive et le puisage de l'eau mais surtout par les enfants qui s'y baignent à longueur de journée. Seule une mare (site 10) est éloignée du village et se situe à 1 122 m.

Sass njafaj

C'est un petit village situé à l'Est de la zone à moins de 5 km de la station de Niakhar. La population est de 1 163 habitants. Les enfants de 3 à 15 ans représentent 38,8% de la population. La plupart des concessions ont un robinet. Seulement une très grande mare (site 2) située à 1 108 m du village à proximité de l'axe routier Niakhar-Bambey est utilisée par les populations. Elle est aussi fréquentée par les villageois de l'autre côté de l'axe routier.

Sob

C'est un petit village situé au Sud-est proche de la station de Niakhar. La population est de 1 323 habitants et les enfants de 3 à 15 ans représentent 36,7%. C'est aussi l'un des villages avec un fort taux d'accès à l'eau potable. Il existe un forage dans le village et la plupart des concessions ont aussi des robinets à l'intérieur. La mare (site 1) est éloignée du village (1 173 m) et elle est seulement fréquentée par les enfants. Il existe aussi d'autres mares éloignées qui sont aussi fréquentées par les populations riveraines.

Logdir

C'est un village de superficie moyenne situé au centre de la zone pas loin du village de Sob. La population totale est de 1 625 habitants et 33,5% sont représentés par des enfants de 3 à 15 ans. Les puits ne sont pas nombreux et l'accès à l'eau potable est très récent. Une seule borne fontaine se trouve dans le village. Les mares sont de petites tailles et s'assèchent dès le mois de Novembre. Une des deux mares (site 14) est très proche des concessions et se situe à 94 m. L'autre mare (site 15) est un peu éloignée et se trouve à 1 158 m à la limite avec le village de Diohin. Elle est aussi fréquentée par les populations des quartiers de Diohin les plus proches.

Tukar

C'est l'un des 3 villages semi-urbanisés de la zone avec une présence de plusieurs infrastructures à savoir un poste de santé, un collège d'enseignement moyen, un forage et un accès à

l'eau de robinet très importante. C'est le village le plus peuplé avec 4 727 habitants. Les enfants de 3 à 15 ans occupent 35,9% de la population. Il est situé au centre de la zone à environ 15 km de la station de Niakhar. Les mares sont nombreuses, assez vastes et situées à la périphérie du village loin des concessions. La plus proche (site 8) se trouve à 789 m et la plus éloignée (site 9) à 1 354 m des concessions. Elles sont néanmoins très utilisées pour la lessive, les baignades et l'abreuvement du bétail. Des enclos de bétail sont construits à proximité de la mare la plus proche et des petits bergers y passent toutes les journées pendant l'hivernage.

Diohin

C'est aussi l'un des villages avec un niveau de vie assez élevé car ayant les mêmes infrastructures que ceux du village Tukar et un niveau d'accès à l'eau potable important. Il est également l'un des villages les plus peuplés avec 4 130 habitants dont 35,8% appartient à la classe d'âge de 3 à 15 ans. Il est situé sur le même axe que Toucar un peu plus au Sud. Mais les mares ne sont pas nombreuses et la plus fréquentée (site 16) est très éloignée des concessions (2 328 m). Elle est seulement utilisée par les enfants surtout les petits bergers pour les baignades lors de la surveillance du bétail. Des enclos existent aussi à des endroits pas très loin de la mare et les petits bergers y passent aussi toutes les journées. Cette mare est aussi fréquentée par les enfants de certains quartiers du village de Godel qui se situent à environ 1 497 m.

II.2. Méthodologie

II.2.1. Volet parasitologie

- Evaluation rapide de la prévalence de la schistosomiase urinaire en milieu scolaire

Afin de mesurer l'ampleur de la parasitose dans la zone, nous avons effectué une enquête en milieu scolaire chez des élèves âgés de 7 à 15 ans dans 14 établissements au niveau de 12 villages de la zone d'étude. En effet les élèves constituent une population sédentaire, facilement mobilisable et particulièrement exposée à la schistosomiase urinaire du fait de leurs activités (baignades aux heures chaudes, jeux prolongés dans l'eau) au niveau des points d'eau.

Au total 15 grappes de 14 élèves ont été sélectionnées. Les enfants étaient tirés au hasard sur les listes des classes de la première à la cinquième année du cycle primaire. Au total, 14x15 enfants ont été enrôlés pour estimer la prévalence de *S. haematobium* à Niakhar.

A partir de cette prévalence, nous avons estimé la taille de l'échantillon de la cohorte pour le suivi longitudinal de la dynamique de la transmission de 2011 à 2014.

- Sélection de la cohorte d'enfants et d'adultes à suivre

Pour estimer la taille de la cohorte à suivre, nous avons effectué une enquête préliminaire chez les habitants de plus de 15 ans pour estimer la prévalence des antécédents d'hématurie déclarées. Les prévalences étaient de 48,7% chez les sujets de 16 à 30 ans et 52,5% chez ceux de 31 à 60 ans soit une moyenne de 50,2%. Chez les écoliers, la prévalence était de 57,6%. Étant donné qu'aucun traitement de masse n'a eu lieu dans la zone avant le démarrage de l'étude, nous avons estimé à 54% la prévalence moyenne au niveau de la population globale. La taille de l'échantillon est calculée selon la formule suivante :

$$N = \varepsilon^2 p q / i^2$$

Avec **N** étant la taille de l'échantillon, ε l'écart réduit correspondant au risque d'erreur $\alpha=5\%$ dans la table des écarts réduits, p la prévalence moyenne qui est de 0,54, $q=(1-p)$ et i la précision fixée à 5%.

$$N = (1,96)^2(0,54)(0,44) / (0,05)^2 = 397$$

Nous avons estimé à 15% les déperditions qui pourront être liées aux absences, abandons, migrations et autres. La taille de la population est alors de :

$$N = 397 \times 15 / 100 = 457$$

Le suivi était réalisé par village et chaque village représente une grappe. Tenant compte de l'effet de grappe selon lequel les personnes habitant les mêmes hameaux ou concessions ont tendance à avoir les mêmes activités vis-à-vis des points d'eau du même village et donc les mêmes risques, la taille de l'échantillon a été alors multipliée par 2.

$$N = 457 \times 2 = 913$$

En définitive, 913 individus ont été ciblés pour le suivi parasitologique.

Nous avons fait par la suite une pondération par village selon le poids de sa population par rapport aux autres, mais aussi une pondération par sexe et âge dans chaque village. Les effectifs qui étaient prévus pour le suivi sont représentés dans le tableau ci-après.

Tableau 1: Effectifs des sujets ciblés pour le suivi de la cohorte par village, sexe et classe d'âge

Village	5 - 14 ans		15 - 30 ans		31 - 60 ans		Sou-total		Total
	M	F	M	F	M	F	M	F	
Ngangarlam	8	8	6	6	3	6	17	20	37
Ngalagne kop	8	8	8	9	6	6	22	23	45
Diohin	30	31	36	35	22	24	88	90	178
Gajak	24	25	24	28	18	19	65	72	138
Godel	12	14	12	12	8	9	32	35	67
Kocokh	14	12	14	13	9	10	37	35	72
Logdir	8	15	14	12	8	9	30	36	66
Sass ndiafaj	5	6	7	8	5	5	17	19	36
Puday	10	11	12	12	7	7	29	30	59
Sob	10	10	10	11	6	8	26	29	55
Tukar	27	26	29	35	22	22	78	83	161
Sous-total	155	166	172	181	114	125	441	472	913

II.2.2. Volet malacologie

Avant le démarrage du suivi malacologique, nous avons fait une enquête préliminaire auprès des habitants de chaque village préalablement sélectionné pour le suivi parasitologie. L'objectif était de découvrir, recenser et géo-référencier les points d'eau les plus fréquentés. La sélection des points était basée, sur les fréquentations, la proximité et l'accessibilité. La priorité était accordée à ceux non éloignés des concessions et très fréquentés pour les baignades et la lessive. Nous avons identifié d'un point d'eau à l'autre les sites de contacts homme-eau avec une numérotation continue. En général, dans chaque mare il y a une seule porte d'entrée qui représente le site de contact homme-eau. C'est au niveau du marigot qu'il y a plusieurs sites de contacts. Ces sites ont fait l'objet d'un suivi régulier de 2011 à 2013 dans le but d'étudier la dynamique des populations de mollusque et leur évolution.

Au total, 26 sites de collecte répartis dans les différents villages ont été sélectionnés et visités régulièrement pour le suivi malacologique (tableau 2).

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des différents sites d'échantillonnage de bulins par village et points d'eau

Village	Nom du site en "sérère"	Nature point d'eau	Nb. de site	N. site	Latitude N	Longitude	Altitude
Sob	Khondore	mare	1	1	1429.328	W16 25.804	19 m
Sass njafaj	Fassaw	mare	1	2	N14 30.621	W16 24.013	14 m
Ngalagne kop	Ongathié	mare	1	3	N14 34.417	W16 25.883	22 m
Ngalagne kop	Mbeladéme	mare	1	4	N14 34.418	W16 25.884	5 m
Ngalagne kop	Mbel mbégane	mare	1	5	N14 35.606	W16 26.292	12 m
Ngalagne kop	Lofné	mare	1	6	N14 35.669	W16 26.638	8 m
Tukar	Mbéla mack	mare	1	7	N14 33.093	W16 29.209	15 m
Tukar	Thiolaye	mare	1	8	N14 32.543	W16 29.506	24 m
Tukar	Takit	mare	1	9	N14 32.753	W16 29.742	22 m
Puday	Carrière	mare	1	10	N14 32.720	W16 27.798	21 m
Puday	Niamanglé	mare	1	11	N14 32.448	W16 28.128	5 m
Puday	Ngafoye	mare	1	12	N14 33.559	W16 27.696	15 m
Ngangarlam	Mbel khakhale	mare	1	13	N14 35.079	W16 28.140	25 m
Logdir	Mbel fédiéme	mare	1	14	N14 29.765	W16 28.930	21 m
Logdir	Omamane	mare	2	15	N14 29.533	W16 29.700	15 m
Diohin	Ossapane	mare	1	16	N14 29.968	W16 31.662	20 m
Gajak	Bill Bill 1	marigot	1	17	N14 31.027	W16 31.800	16 m
Gajak	Bill Bill 2	marigot	1	18	N14 31.300	W16 31.526	17 m
Gajak	Bill Bill 3	marigot	1	19	N14 31.301	W16 31.526	16 m
Gajak	Bill Bill 4	marigot	1	20	N14 31.232	W16 31.643	16 m
Godel	Doufle ndofene	marigot	1	21	N14 30.361	W16 32.003	11 m
Godel	Doufle sofna	marigot	1	22	N14 30.055	W16 32.138	6 m
Godel	Mbel demba	mare	1	23	N14 29.934	W16 33.058	14 m
Kocokh	Khoudokh	marigot	1	24	N14 29.650	W16 32.128	20 m
Kocokh	Sakho	marigot	1	25	N14 28.762	W16 32.854	20 m
Kocokh	Niamangue	marigot	1	26	N14 28.195	W16 33.269	16 m

Les mollusques sont récoltés au niveau de chaque site de contact homme-eau à l'aide d'une époussette à manche longue en secouant la végétation aquatique. D'autres sont ramassés sur le sol ou prélevés à la surface de l'eau ou sur les objets en suspension (figure 16).



Figure 16: Collecte des mollusques dans une mare à Niakhar (Octobre 2011)

La récolte des mollusques était réalisée par une seule personne. La durée de récolte était de 15 minutes pour les deux premières années. Les nombres récoltés étant faibles, nous avons prolongé la durée à 30 minutes pendant la dernière année. Tous les mollusques récoltés étaient ramenés au laboratoire de Niakhar où ils ont été étudiés par site. Les tailles des mollusques récoltés après chaque prospection étaient mesurées sous une loupe binoculaire à l'aide d'un papier millimétré pour l'étude de la structure de leur population. Seulement les mollusques collectés en Juillet après les premières pluies étaient considérés pour l'étude de leur écologie notamment leur capacité de résistance à la sécheresse. L'identification des mollusques a été réalisée à l'aide d'une clé pour l'identification des gastéropodes (Diaw *et al.*, 1999). La confirmation a été faite à Dakar par un spécialiste de l'ISRA.

Les mollusques dont la taille est supérieure ou égale à 3 mm étaient testés pour les émissions de cercaire de *S. haematobium*. Les cercaires ont été reconnues par leur nage active dans l'eau, leur tête allongée, leur queue longue et fourchue recourbée au repos (Diaw *et al.*, 1999, Devkota *et al.*, 2011). Les mollusques émetteurs étaient conservés en vie et ramenés à Dakar pour confirmer le type de cercaires. Nous avons déterminé les taux d'infestation par espèce, et par village.

Le taux d'infestation des mollusques était calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'infestation (\%)} = \frac{\text{Nombre de mollusques infestés par } S. \textit{haematobium}}{\text{Nombre de mollusques testés}} \times 100$$

Les mollusques émetteurs ou non de cercaires étaient conservés dans de l'éthanol à 70° C pour l'identification génétique et la mise en place d'une technique de PCR pour l'étude de leur infestation par *S. haematobium*.

II.3. RESULTATS

Les résultats seront présentés sous formes d'article publié, soumis ou en préparation pour soumission

II.3. RESULTATS

Présentation de l'ensemble des travaux

Afin de lutter efficacement et de façon durable contre la schistosomiase urinaire dans les zones à transmission saisonnière, une compréhension de l'épidémiologie de la maladie en rapport avec ces écosystèmes pluvio-temporaires de mares et marigots est nécessaire. Cela ne peut se faire qu'avec la réalisation des études de prévalence et d'efficacité des traitements administrés mais aussi un suivi de la ré-infection de populations humaines qui constitue le plus grand problème dans l'élimination de cette parasitose.

Pour cela, la première étape de nos travaux était de faire une évaluation ciblée de l'ampleur de la parasitose à travers une étude de la prévalence et de l'intensité de l'infestation. Cette évaluation a été réalisée dans la tranche d'âge la plus exposée représentée par les enfants d'âge scolaire. Ceci a été fait pour avoir une idée de la maladie au niveau de la population globale. La deuxième étape de nos travaux était un suivi longitudinal et avait porté sur la population générale (enfants en âge scolaire et adultes). Dans cette étape, nous avons sélectionné les villages où la prévalence en milieu scolaire était supérieure à 50% dans la première étude et dont les populations fréquentent au moins une mare proche et/ou le marigot. Cela nous conduit à remplacer certains villages de la première étude par de nouveaux villages qui remplissaient mieux ces conditions. Cette démarche a été adoptée pour une bonne corrélation entre la dynamique de l'infection de la population humaine et celle des mollusques hôtes intermédiaires au niveau des points d'eau de chaque village. Il nous a fallu alors faire dans cette étape, une étude baseline de prévalence et évaluer l'efficacité d'un seul traitement par le praziquantel (40mk/kg) sur la prévalence et l'intensité de l'infection ainsi que sur la re-infection pendant un cycle de transmission. Cette deuxième étude a concerné des enfants de 5 à 15 ans de 6 villages. Afin de comprendre le fonctionnement de ce système épidémiologique, nous avons aussi réalisé une troisième étude portant sur le suivi de la dynamique des mollusques hôtes intermédiaires pendant 3 années (2011 à 2013). Enfin, pour comprendre l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire dans ce foyer à mares et marigot temporaires, nous avons effectué une quatrième étude plus large regroupant des enfants et des adultes de 9 villages et portant sur 3 cycles de transmission (2011, 2012 et 2013). Cette étude avait pour but d'évaluer l'impact des traitements annuels répétés au Praziquantel pendant trois ans sur la dynamique de la transmission de la schistosomiase urinaire à Niakhar.

Etude 1: Prévalence et intensité de la schistosomiase urinaire chez des enfants en âge scolaire dans le district de Niakhar, région de Fatick, Sénégal

Présentation de l'étude

L'existence d'un suivi scolaire depuis 2003 dans la zone d'étude nous a permis d'évaluer rapidement la prévalence et l'intensité de l'infestation de la schistosomiase urinaire. Du fait de sa situation écologique, Niakhar est une des localités du Sénégal où sévit actuellement uniquement *S. haematobium*. Afin d'estimer de façon rapide la prévalence de la maladie dans la communauté, les écoliers ont été ciblé du fait de leur accessibilité au niveau des écoles et de la facilité d'avoir des échantillons d'urines. Le nombre d'établissements qui avaient un cycle complet était de 20. Pour avoir un échantillon hétérogène et largement distribué, nous avons sélectionné les enfants dans 14 établissements répartis dans 12 villages de façon à couvrir le maximum possible la zone d'étude. Les villages sont : Datel (Nord), Diokhine (centre Ouest), Gajak (Ouest), Godel (Sud-ouest), Kothiokh (Sud-ouest), Logdir (Sud), Ngayokhem (Est), Ngonin (Nord-ouest), Poultok-Diokhine (au centre), Sass njafaj (Est), Sob (Sud-est) et Toucar (centre Nord). La population d'étude était divisée en 3 classes d'âges : 7 – 9 ; 10 – 12 et 13 – 15 ans.

Pour chaque individu, les échantillons d'urine étaient recueillis entre 10 et 14 heures. Chaque échantillon d'urine était secoué pour assurer la dispersion des œufs. Un volume de 10 ml est prélevé à l'aide d'une seringue et filtré à travers un filtre Millipore SX0001300 Swinnex®. La filtration est suivie par un examen microscopique pour la détection des œufs de *S. haematobium* selon la méthode développée par Plouvier *et al.* (Plouvier *et al.*, 1975).

L'intensité de l'infection était classée comme faible si le nombre d'œufs pour 10 ml d'urine est comprise entre 1 et 49 et forte si le nombre est supérieur ou égal à 50 œufs, tel que défini par l'Organisation mondiale de la santé (WHO, 2002). Les données étaient enregistrées à l'aide du logiciel Epi-Info, version 3.5.1 et analysées sur STATA version 11.1. Les comparaisons de prévalence étaient réalisées en utilisant le test du chi-square ou le test exact de Fisher. Pour la mesure d'intensité de l'infection moyenne, la moyenne géométrique de Williams a été utilisée pour calculer le nombre d'œuf moyen décompté. La prévalence et l'intensité étaient comparées entre les établissements des villages, l'accès à l'eau de robinet au niveau des villages, l'âge et le sexe. Dans tous les cas, une valeur de $P < 0,05$ indique une différence statistique significative.

Principaux résultats

Prévalence et intensité de l'infestation moyennes chez les enfants en âge scolaire

Parmi les 210 échantillons d'urine examinés pour la recherche de *S. haematobium*, 121 (57,6%) étaient positifs, avec une moyenne géométrique du nombre d'œufs décompté (EMGC) de 185 pour 10 ml d'urine. Plus de 72% des enfants infectés avaient des charges ovulaires supérieures à 49 œufs/10 ml d'urine synonyme de fortes infections. La prévalence la plus élevée était trouvée chez les enfants du village de Kothiokh (92.9%), et la plus faible chez ceux du village Ngonin (14.3%). Une différence significative ($p < 0,001$) de la prévalence de *S. haematobium* a été notée entre les villages. Plus de 90% des enfants étaient fortement infectés dans les établissements scolaires des villages de Ngayokhem, Ngonin et Poultok-Diokhine.

Prevalence et intensité de l'infection selon le sexe, l'âge, le type de point d'eau fréquenté et l'accès à l'eau potable

Les garçons avaient en moyenne une prévalence de 66% et une intensité de l'infection de 253 œufs/10 ml de *S. haematobium* plus élevées que chez les filles (49,5% et 126 œufs/10 ml respectivement). La différence de la prévalence et de l'intensité de l'infection entre les sexes était significative ($p < 0,05$).

La prévalence avait significativement augmenté avec l'âge ($p < 0,05$). Par contre l'intensité de l'infection était plus importante chez les enfants âgés de 10 à 12 ans mais la différence n'est pas significative.

En considérant le type de points d'eau utilisé, nous avons constaté que la prévalence était significativement plus élevée chez les enfants qui fréquentent le marigot (69,6%) que chez ceux qui utilisent les mares (53,3%) ($p < 0,05$). Mais les plus fortes intensités de l'infection étaient plus retrouvées chez ceux qui fréquentent les mares (202 œufs/10 ml contre 156).

Cette étude a aussi montré que les enfants des villages qui n'avaient pas accès à l'eau du robinet avaient une prévalence et une intensité de l'infection significativement plus élevée que les autres ($p < 0,005$).

Conclusion

Cette étude est la première évaluant la prévalence et l'intensité de l'infestation de la schistosomiase urinaire dans la zone d'étude de Niakhar. Les résultats ont montré que la prévalence et les fortes infections chez les enfants en âge scolaire sont supérieures à 50%. Par conséquent, des traitements de masse répétés, une éducation pour la santé et une amélioration de l'accès à l'eau de robinet sont fortement recommandés afin de diminuer la prévalence et l'intensité de l'infection.

Ce travail a été publié dans le journal Parasites & Vectors

RESEARCH

Open Access

Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar, region of Fatick, Senegal

Bruno Senghor^{1,2}, Aldiouma Diallo¹, Seydou N Sylla^{1,3}, Souleymane Doucouré¹, Mamadou O Ndiath¹, Lobna Gaayeb⁴, Félicité F Djuikwo-Teukeng⁵, Cheikh T Bâ² and Cheikh Sokhna^{1*}

Abstract

Background: Urinary schistosomiasis is a parasitic disease that exists in all regions of Senegal. It is a major public health issue in this country. This study was carried out to determine the prevalence and intensity of this parasitosis in 12 villages of Niakhar (Fatick, Senegal).

Methods: A total of 210 schoolchildren, aged 7 to 15 years, were enrolled in this study, and urine samples were examined for *Schistosoma haematobium* eggs using a standard urine filtration technique.

Results: Of these children, 121 (57.6%) were found to be infected with a mean geometric count of 185 eggs per 10 ml of urine. The disease was present in all surveyed villages, and the prevalence ranged from 14.3% to 92.8%. The prevalence of infection was significantly correlated with increasing age and was higher in boys. Infection intensity was significantly higher in boys but did not significantly differ with age. Significant relationships between i) water contact or access to running water and ii) the prevalence or intensity of urinary schistosomiasis were also noted.

Conclusions: The district of Niakhar is endemic for urinary schistosomiasis, with a high intensity of infection. A control program to decrease the prevalence and intensity should be implemented in this area to improve community health.

Keywords: Epidemiology, Helminths, Infection, Intensity, Niakhar, Prevalence, Senegal, Urinary schistosomiasis

Background

Schistosomiasis is a chronic and debilitating disease caused by digenetic trematode flatworms (flukes) of the genus *Schistosoma*. This water-dependent disease is endemic in rural areas where there is a lack of drinking water [1]. Schistosomiasis is one of the most common parasitic infections in the world, ranking second after malaria in terms of socio-economic and public health importance, especially in rural areas of developing countries [2,3]. Of the 239 million people with active *Schistosoma* infections in 2009 [4], 85% lived in sub-Saharan Africa, where approximately 112 million and 54 million were infected

with urinary and intestinal schistosomiasis, respectively, and the number of persons at risk of infection is greater than 600 million [5]. Therapeutic vaccines represent an alternative to chemotherapy (praziquantel) to control this disease [6]. However, the lack of epidemiological data on parasite prevalence may hamper control interventions and the development of vaccination strategies.

In Senegal, urinary schistosomiasis has been widespread and poses a public health problem, particularly in children [7,8]. It is present in all regions of the country [9], with a mean estimated prevalence of 25% in 2003 [10]. In the Niakhar district, one previous study on the protective effect of schistosomiasis against malaria was carried out in two villages (Tukar and Diokhine), and the overall prevalence of urinary schistosomiasis was 67% [10]. As no mass treatment against this helminthiasis has been carried out in this area, the aim of the present study

* Correspondence: cheikhsokhna@ird.fr

¹Institut de Recherche pour le Développement, UMR 198 (URMITE), Campus International de Hann, IRD, BP 1386, CP 18524 Dakar, Senegal
Full list of author information is available at the end of the article.

was to determine the prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children.

Methods

Study area

The study was carried out at Niakhar (14°30' N, 16°30' W), a Demographic Site Survey (DSS) located in the region of Fatick (Sine-Saloum), 135 km east of Dakar, the capital of Senegal, West Africa. The study zone (Figure 1a) was approximately 15 km long and 15 km wide and covered 230 km². The climate is continental Sudan-Sahelian, with temperatures ranging from 24°C in December-January to 30°C in May-June [11]. The rainy season spans four months (July-October), and the mean annual precipitation was 506 mm from 1962 to 2010 [12]. The district includes 30 villages with a total of 43,000 inhabitants [13], mainly of the serer ethnic group (96.4%) [14]. An environmental survey of this area has mapped all of the water sources (backwater, ponds, wells and supply taps), and it showed that the two-thirds of the population had no access to tap water [11]. A more detailed description of the Niakhar district has been given elsewhere [15].

Selection of children

All the studies in the Niakhar district were conducted with the approval of the National Ethics Committee of Senegal. Oral consent was obtained after meeting with parents of schoolchildren and chiefs of the villages. A cross-sectional descriptive and analytical study was carried out from

February to June 2009, and it involved children aged 7 to 15 years. The methodology used was cluster sampling, as recommended by the World Health Organization, with samples of at least 210 subjects each, which were divided into 30 clusters of at least 7 subjects. Because we had 20 primary schools, we decided to work on 15 clusters of 14 subjects each, giving us the same sample size of 210. The sampling interval (SI) was determined by the formula $SI = M/n$, with M as the total number of schoolchildren in 2009 and n as the number of clusters ($SI = 6.873/15 = 458$). To determine the first cluster for investigation, a random draw of numbers was made between 1 and the number corresponding to the sampling interval (458). The school with the closest number of schoolchildren to the SI number was chosen first. Other schools were selected as follows: E, E + SI, E + 2 SI, E + 3 SI ... (E, number of children in the first selected school). The 15 clusters were distributed over 14 villages (out of the 20 villages that had at least a primary school). A total of 210 schoolchildren were enrolled in the study.

Sample collection and analysis

Urine samples were collected between 10:00 a.m. and 2:00 p.m., and their macroscopic aspect in transparent urine jars was examined. All samples that did not have a more or less dark yellow and a translucent aspect, without any particulates, were considered abnormal. We selected three macroscopic aspects: clear urine (urine of normal appearance and translucent), cloudy urine (urine

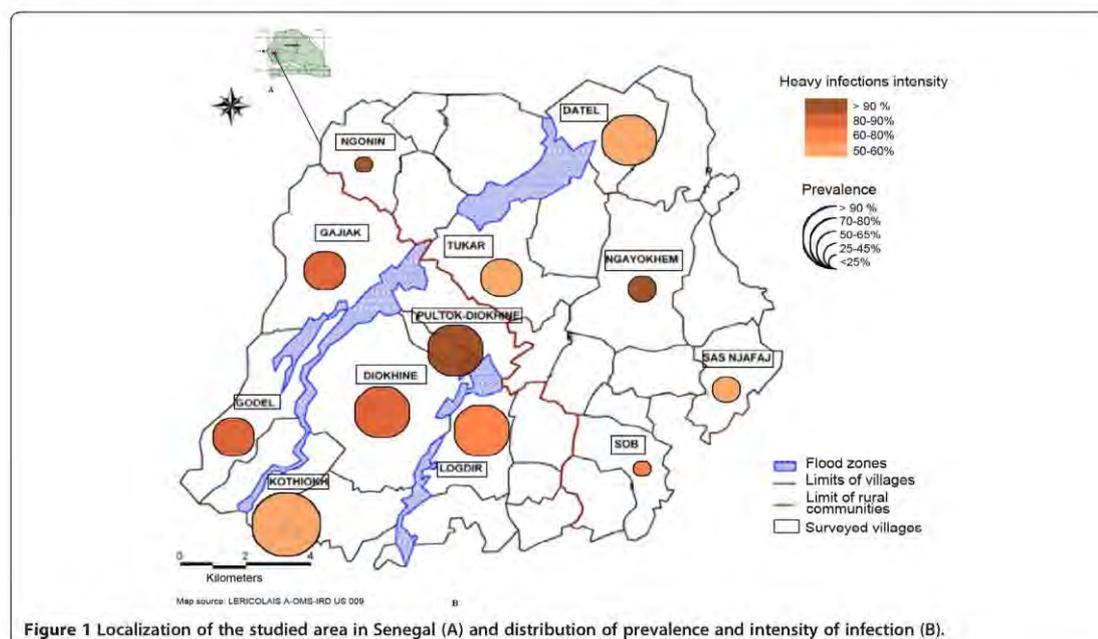


Figure 1 Localization of the studied area in Senegal (A) and distribution of prevalence and intensity of infection (B).

of abnormal appearance, not translucent, with clots or suspension elements) and hematic urine (abnormal urine, non-translucent and red). Data were collected using a questionnaire whose reliability has been demonstrated in several countries for the detection of high-risk areas for schistosomiasis [16,17]. This questionnaire was given to each urine-providing child to collect information on the child's sex, age, water contact, symptoms of urinary schistosomiasis, knowledge about the disease, and previous praziquantel treatment. A plastic urine jar of 50 ml was then given to each child with a number corresponding to the questionnaire. Urine samples were transported to the Niakhar laboratory for analysis.

Microscopic examination of each urine sample for detection of *S. haematobium* eggs was performed using the method by Plouvier *et al.* [18]. In brief, 10 ml from each sample of urine was passed through a Millipore filter (12 µm polycarbonate filter), and this filter was analyzed with a 10 × objective. The number of eggs per filter was counted, and the infection intensity was classified as light (<50 eggs/10 ml of urine) or heavy (≥50 eggs/10 ml of urine), as defined by the World Health Organization [19].

Statistical analyses

Data were recorded using the Epi-Info, version 3.5.1 (August 13, 2008) and analyzed using STATA 11.1. The relationships between characteristics of human infection (prevalence and intensity) and other variables, such as the location of villages, sex and age of children, water contact, or access to tap water, were tested. Differences in percentages were analyzed using the χ^2 test. The Geometric Means of Williams (GMW) was used for egg counts. The Mann-Whitney test was used for comparisons between the characteristics of human infection and the children's sex, water contact or access to tap water, while the Kruskal-Wallis test was utilized for comparison between infection characteristics and the ages of children. Confidence intervals (CI) at 95% for GMW were estimated according to Kirkwood and Sterne [20]. A value of $p < 0.05$ was considered significant.

Ethical approval

All the studies in the Niakhar district were conducted with the approval of the National Ethics Committee of Senegal, followed by the local health authority. Before the study began, the chiefs of the villages and parents were fully briefed on the objective of the study. The study was explained to each participant for their understanding and cooperation. Parents and participants were asked to consent verbally to participate in the study; only those who provided consent were enrolled and requested to provide urine samples. At the end of the study, all the children registered were treated with praziquantel according to their weight (40 mg/kg).

Results

Sample characteristics

The sex ratio (M/F) was 0.9, with 101 boys and 109 girls. The average age was 10.4 years (SD: 2.1 years). The individuals were divided into three age groups (7–9, 10–12 and 13–15 years), representing 37.2%, 41.4% and 21.4% of the children, respectively. Hematuria (52.4%) and dysuria (54.3%) were the most commonly reported symptoms by both infected and uninfected children. Abdominal pain (34.7%) was the least reported symptom. Macroscopic urine examination showed that clear urine (49%) was more frequent than cloudy urine (40%) or hematic (11%) urine. A few children (4.8%) had knowledge of schistosomiasis, and 5.5% had received previous treatments for this disease. A question on travel outside the Niakhar area showed that only 12% of children traveled to other regions during vacations. The others, especially the youngest, remained in their villages (Table 1).

Prevalence and intensity of *S. haematobium* infection

Of the 210 urine samples examined for *S. haematobium*, 121 (57.6%) were infected, with a mean geometric count (EMGC) of 185 [95% CI, 130–264] eggs/10 ml of urine, and 72.8% of the infected urine samples exceeded 49 eggs/10 ml of urine. The highest prevalence (> 90%) was found in the village of Kothiokh, and the lowest prevalence (< 25%) was found in the village of Ngonin. A significant relationship ($p < 0.001$) in the prevalence of infection between villages was noted. The greatest heavy infection intensities (> 90%) occurred in the villages of Ngayokhem, Ngonin and Poultok-Diokhine (Figure 1b).

Prevalence and intensity of *S. haematobium* infection in relation to water contact and access to tap water

The prevalence of infection was greater in persons who used backwater (69.6%) than those who used ponds (53.3%). A highly significant relationship ($p < 0.01$) was

Table 1 Reported symptoms and main characteristics of collected urine samples

Symptoms and other characteristics	Absolute frequencies	Relative frequencies (%)
Haematuria reported	110	52.4
Previous treatment	6	5.5
Urinary pain	56	52.3
Abdominal pain	37	34.7
Clear urine	103	49
Cloudy urine	84	40
Macroscopic hematuria	33	11
Frequenteration of water points	160	76.2
Knowledge of schistosomiasis	10	4.8
Travel outside villages	27	12.8

found between the prevalence of infection and the type of water contact. The highest EGMC, 202 (95% CI, 134–314) eggs/10 ml of urine, was found in persons who use ponds. People who did not have access to tap water had the highest prevalence and EGMC. Significant differences were also noted between prevalence and access to tap water ($p < 0.005$), and between intensity of infection and access to tap water ($p < 0.005$). If only the villages with tap water are considered, the prevalence and intensity of infection were significantly higher in boys than in girls ($p < 0.01$). In contrast, in villages without tap water, the prevalence and intensity of infection were higher in girls, but these differences were not significant (Table 2).

Prevalence and intensity of *S. haematobium* infection by gender and age

Boys had a higher infection rate (66%) and EMGC (253 [162–396] eggs/10 ml of urine) than girls (49.5% and 126 [95% CI, 130–264] eggs/10 ml, respectively). Significant differences in prevalence values and intensities of infection according to sex ($p < 0.05$) were noted (Table 3). Boys were heavily infected regardless of age, but a significant difference ($p < 0.05$) was only noted between boys and girls in the 7–9 year group.

The prevalence of infection increased with age, and statistical analysis indicated a significant relationship ($p < 0.05$) between these two variables. The EMGC decreased in the 10–12 year group, before increasing again in the 13–15 year group. No significant difference between the

Table 2 Prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* with respect to water contact and access to running water

	No. examined	No. infected (%)	Egg count geometric mean (95% CI)
Water contact			
Backwater	56	39(69.6)	156(77–314)
Ponds	154	82(53.2)	202(134–314)
P value			0.141
Access to running water			
Access to tap water	140	71(50.7)	176(112–277)
No access to tap water	70	50(71.4)	200(112–358)
P value			0.007
Access to tap water			
Boys	69	43(62.5)	346(209–573)
Girls	71	28(39.4)	62(30–128)
P value			<0.001
No access to tap water			
Boys	32	24(75)	145(61–344)
Girls	38	26(68.4)	269(117–616)
P value			0.738

Table 3 Prevalence and egg count geometric mean of *Schistosoma haematobium* by gender and age of schoolchildren in the study villages

	No. examined	No. infected (%)	Egg count geometric mean (95% CI)
Gender			
Boys	101	57(56.3)	253(162–396)
Girls	109	54(49.5)	126(71–221)
P value			0.003
Age			
7–9 years	78	35(44.8)	202(102–400)
10–12 years	87	36(41.4)	161(96–270)
13–15 years	45	30(66.6)	217(100–469)
P value			0.058

age of children and the infection intensity was noted (Table 3). However, if boys and girls are grouped, the intensity of infection decreased with age in girls and increased in boys. The difference between boys and girls was also significant in the 7–9 year group ($p < 0.05$). The variables age, gender and access to water were confronted to villages with medium and high intensity but statistical analysis showed no significant difference ($p > 0.05$).

Discussion

The results of the present study show that the Niakhar district is endemic for urinary schistosomiasis. The prevalence (57.6%) and intensity of *S. haematobium* infection (185 eggs/10 ml) indicate a high risk at the community level in accordance with the WHO definition [19]. This high rate of egg excretion might be due to the age group studied because children from 7 to 14 years old are the most important egg shedders [21,22]. In addition, only 5.5% of children had received treatment for schistosomiasis, which would explain the rates observed. This finding is also attributable to intense water contact activities in the area. The same observation was also made in Senegal (in the region of Bignona, Casamance [23]), at Barkedji in the department of Linguere [24]) and in several Nigerian villages around the Gusau dam, Zamfara [25]. Communities in the study area of Niakhar are rural, and most of the villages depend on backwater and ponds for their water needs, such as bathing, swimming, fishing and other domestic uses. These water bodies provide natural water sources and also serve as habitats to intermediate hosts (bulinids) and schistosome parasites. These water bodies constitute the main transmission foci of *S. haematobium* in the communities and are distributed throughout the area. These conditions make it certain that the people will continue to be infected and re-infected because no intervention strategy has been implemented in the area.

However, the differences found in the prevalence and intensity of infection between the villages investigated could be attributed to the fact that people living in Datel, Gajiak, Godel and Kothiokh were dependent on backwater as their principal water source during the rainy season. The high prevalence in these villages reflects the higher level of exposure and dependence of these inhabitants on backwater, which persists during the dry season [11,14]. In addition, these villages did not have access to tap water [11]. The low prevalence observed in the other villages might be due to the fact that they depended on ponds, which dried more rapidly than backwater, and to the presence of running water for their daily uses. This observation agrees with other reports conducted in Nigeria [25,26] where variability and epidemiology of the disease were attributable to water-contact patterns. It is also similar to the observations by Nkengazong *et al.* [27], who showed in south west Cameroon that villages without pipe-borne water access maintained a high level of infection. However, in some villages with running water in the Niakhar district, the prevalence was also high. This situation might be explained by other factors such as the proximity with ponds, lack of health education and poor hygiene.

The higher prevalence in boys than in girls confirms other reports for human infection in Senegal [24,28] and in several different localities in West African countries [29,30]. However, this result does not agree with the reports by Dabo *et al.* [31] in Mali and Ahmed *et al.* [32] in central Sudan, who found similar prevalence in boys and girls. EGMC was strongly correlated with gender, with boys being more heavily infected than girls. This difference noted in the Niakhar district may be due to cultural, behavioral and social factors. Indeed, during the rainy season, boys participate in various activities, such as swimming, washing domestic animals, fishing, etc., that create frequent and prolonged contact with water sources. In contrast, girls are restricted socially from water contact activities such as swimming and bathing. They also go to backwater and ponds for the washing of clothes or fetching water for domestic work. In villages with running water, girls usually stay at home and generally use tap water for housework, thus reducing their contact with other water sources. Boys thus constitute a high risk group for urinary schistosomiasis in Niakhar.

The highest prevalence values of urinary schistosomiasis were recorded in the 10–12 and 13–15 year groups. These age classes are most likely responsible for schistosomiasis transmission in the area. The increase of prevalence with increasing age of children was also noted in other African countries. In Burkina Faso, Poda *et al.* [33] found a significant difference between three age groups (7–9, 10–12, and 13–16 years). A similar result was also reported by Briand *et al.* [10] in two villages from the

same district of Niakhar. In the present study, the percentage of infected schoolchildren in the 10–12 year group was practically equal to that noted in the 13–15 year group, and this last finding agrees with several reports [22,34] where there was a peak at 10–14 years. No significant difference was observed between the age of children and the intensity of infection. This finding also agrees with previous reports [34,35] where the intensity of infection did not show any significant difference with the age of children.

If children are grouped by age and sex, the intensity of *S. haematobium* infection increased with age in boys but decreased in girls. According to Gryseels *et al.* [1], the decline of intensity of infection among older children in some populations is due to a decreased contact with infected water [1]. In the Niakhar district, the decrease in infection observed among older girls might be explained by their seasonal migration to urban areas during the rainy season to seek employment as domestic workers [14]. Boys stay in the villages during the rainy season, thus maintaining a high intensity of egg parasites, most likely due to seasonal re-infection. A snail survey is needed to assess the role of water sources in the transmission of *S. haematobium*. The implementation of a control program in this area to decrease prevalence and intensity would also be highly suitable.

Conclusions

The results obtained show that the Niakhar area is endemic for urinary schistosomiasis. Health education and large-scale chemotherapy for all schoolchildren to decrease the prevalence and intensity of infection would be highly suitable. All the villages of the Niakhar district need access to piped water to reduce contact with infected waters.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

Conceived and designed the study: AD, CTB and BS. Performed field activity: AD and BS. Performed the experiment: BS. Analyzed the data: SNS, FFD-T, LG and BS. Wrote the paper: BS, SD, FFD-T, LG and MON. Supervised the study: AD, CTB and CS. All authors approved the final version of the manuscript.

Acknowledgements

We thank Paul Senghor for the technical assistance. We thank Kory Faye, deceased, our guide during this study.

Author details

¹Institut de Recherche pour le Développement, UMR 198 (URMITE), Campus International de Hanni, IRD, BP 1386, CP 18524 Dakar, Senegal. ²Département de Biologie Animale, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005 Dakar, Senegal. ³Université Gaston Berger de Saint Louis, UFR Sciences Appliquées et Technologies, BP 234 Saint Louis, Senegal. ⁴EPLS Biomedical Research Center, Saint-Louis, Senegal. ⁵INSERM UMR 1094, Faculties of Medicine and Pharmacy, Limoges, France.

Received: 6 August 2013 Accepted: 23 December 2013

Published: 3 January 2014

References

- Gryseels B, Polman K, Clerinx J, Kestens L: Human schistosomiasis. *Lancet* 2006, **368**:1106-1118.
- Engels D, Chitsulo L, Montresor A, Savioli L: The global epidemiology situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta Trop* 2002, **82**:139-146.
- King C: Toward the elimination of schistosomiasis. *New Engl J Med* 2009, **360**:106-109.
- King CH, Oibrych SK, Soon M, Singer ME, Carter J, Colley DG: Utility of repeated praziquantel dosing in the treatment of schistosomiasis in high risk communities in Africa: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2011, **5**:e1329.
- Martyne TS, Essame O, Ratard RC: High risk behaviours and schistosomiasis infection in Kumba, South-West Province, Cameroon. *Int J Environ Res Pub Health* 2007, **4**:101-105.
- Riveau G, Deplanque D, Remoué F, Schacht AM, Voudougnon H, Capron M, Thiry M, Martial J, Libersa C, Capron A: Safety and immunogenicity of rSh28GST antigen in humans: phase 1 randomized clinical study of a vaccine candidate against urinary schistosomiasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2012, **6**:e1704.
- Ndir O: Situation des schistosomoses au Sénégal. In *La lutte contre les schistosomoses en Afrique de l'Ouest*. Edited by Chippaux JP. Paris: IRD; 2000:225-256.
- Seck I, Faye A, Gning B, Tal-Dia A: La prévalence de la bilharziose urinaire et ses facteurs de risque en milieu scolaire rural à Fatick au Sénégal. *Med Afr Natl* 2007, **54**:125-131.
- Schur N, Hurlimann E, Garba A, Traore MS, Ndir O, Hatard RC, Tchuem Tchuenté LA, Kristensen TK, Utzinger J, Vounatsou P: Geostatistical model-based estimates of schistosomiasis prevalence among individuals aged ≤ 20 years in West Africa. *PLoS Negl Trop Dis* 2011, **5**:e1194.
- Briand V, Watier L, Le Hesran JY, Garcia A, Cot M: Co-infection with *Plasmodium falciparum* and *Schistosoma haematobium*: protective effect of schistosomiasis on malaria in Senegalese children? *Am J Trop Med Hyg* 2005, **72**:702-707.
- Levi P, Adyarragbo A: Tableau de bord des principaux indicateurs socio-démographiques dans la zone de Niakhar (Sénégal). Dalar: IRD; 2003:38 pp.
- Trape JF, Sauvage C, Ndiaye O, Marra A, Diallo A, Cisse B, Greenwood B, Milligan P, Sokhna C, Molez JF: New malaria control policies and child mortality in Senegal: reaching millennium development goal 4. *J Infect Dis* 2012, **205**:672-679.
- Ndiaye O, Le Hesran JY, Etard JF, Diallo A, Simondon F, Ward MN, Vincent R: Variation climatique et mortalité attribuée au paludisme dans la zone de Niakhar, Sénégal, de 1984 à 1996. *Cahiers Santé* 2001, **11**:25-33.
- Chippaux JP: Recherche intégrée sur la santé des populations à Niakhar (Sahel sénégalais). Paris: IRD; 2005:32.
- Delauray V, Mara A, Levi P, Etard JF, INDEPH: Site de suivi démographique de Niakhar, Sénégal. *Population et santé dans les pays en développement* 2003, **1**:313-321.
- Mafe MA, Von-Stamm T, Utzinger J, N'Goran EK: Control of urinary schistosomiasis: an investigation into the effective use of questionnaires to identify high risk communities and individuals in Niger State, Nigeria. *Trop Med Int Health* 2000, **5**:53-63.
- Van der Werf MJ, De Vlas SJ: Diagnosis of urinary schistosomiasis: a novel approach to compare bladder pathology measured by ultrasound and three methods for hematuria detection. *Am J Trop Med Hyg* 2004, **71**:98-106.
- Plouvier S, Leroy JC, Colette J: A propos d'une technique simple de filtration des urines dans le diagnostic de la bilharziose urinaire en enquête de masse. *Med Trop* 1975, **35**:229-230.
- World Health Organization: Prevention and control of schistosomiasis and soil transmitted helminthiasis: report of a WHO expert committee. *WHO Tech Rep Ser* 2002, **912**:1-57.
- Kirkwood BR, Sterne Jonathan AC: *Essential medical statistics*. 2nd edition. Wiley-Blackwell; 2003.
- Ould Ahmed Salem CB, Alassane MT: Prevalence and parasite load of urinary schistosomiasis in schoolchildren in the Wilaya of Gorgol in Mauritania. *Trop Med* 2011, **71**:261-263.
- Denbe K, Eldaw A, Hadzabdull S, Kallie E, Omer MD, Mohammed AE, Jamsheed T, Mohammed EA, Mengani A, Ali GA, Babikir K, Adem A, Hashim F: High prevalence of urinary schistosomiasis in two communities in South Darfur: implication for interventions. *Parasit Vectors* 2011, **4**:14.
- Gaye O, Diallo S, Ndir O, Bah I, Ndiaye A, Faye O: Epidémiologie des endémies parasitaires dans la région du barrage anti-sel de Bignona (Sénégal). *Dakar Med* 1991, **39**:139-144.
- Thiam I: *Bilharziose urinaire dans la zone du Ferlo - études menées à Borkéji dans le département de Linguère*. PhD thesis. Cheikh Anta Diop University; 1993.
- Ladan MU, Abubakar U, Abdullah K, Bunza MDA, Ladan MU, Adamu: Urinary schistosomiasis in selected villages around Gusau Dam Site, Zamfara State, Nigeria. *Niger J Basic Appl Sci* 2012, **20**:189-194.
- Ugbomolko US: The prevalence, incidence, and distribution of human urinary schistosomiasis in Edo State Nigeria. *Niger J Parasitol* 2000, **24**:642-643.
- Nkengazong L, Njikou F, Asonanyil T: Two years impact of single praziquantel treatment on urinary schistosomiasis in the Barombi Kotto focus, South West Cameroon. *J Parasitol Vect Bial* 2013, **5**:83-89.
- Ka Y: *Prévalence de la bilharziose uragénitale à Schistosoma haematobium dans le district sanitaire de Bambyer - étude comparative de l'enquête par questionnaire et de l'enquête parasitologique*. PhD thesis. Cheikh Anta Diop University; 2002.
- Ugbomolko US, Ofoezile IE, Okoye IC, Heukelbach J: Factors associated with urinary schistosomiasis in two periurban communities in south-western Nigeria. *Ann Trop Med Parasitol* 2010, **104**:409-419.
- Nanyva TN, Dalui DA, Mwansat GS: Schistosomiasis in Ndinjor district of Langtang, North Local Government area of Plateau State, Nigeria. *Niger J Parasitol* 2011, **32**:209-214.
- Dabo A, Badawi HM, Bary B, Doumbo OK: Urinary schistosomiasis among preschool aged children in Sahelian rural communities in Mali. *Parasit Vectors* 2011, **4**:21.
- Ahmed AM, Abbas H, Mansour AF, Gasim G, Adam I: Schistosoma haematobium infections among schoolchildren in central Sudan one year after treatment with praziquantel. *Parasit Vectors* 2012, **5**:108.
- Poda JN, Sorgho H, Dianou D, Sawadogo B, Kambou T, Parent G, Sondo B: Profil parasitologique de la schistosomose urinaire du complexe hydro-agricole du Sourou au Burkina Faso. *Bull Soc Path Exot* 2001, **94**:21-24.
- Ekpo UF, Laja-Delle A, Oluwole AS, O Sam-Wabba S, Maliana CF: Urinary schistosomiasis among preschool children in a rural community near Abeokuta, Nigeria. *Parasit Vectors* 2010, **3**:58.
- Traoré LK, Ouedraogo LH, Pietra V, Nacoulma I, Nebie B, De Salles Pafadnam F: Prévalence de l'infection à *Schistosoma haematobium* et relations bilharziose hématurie dans deux villages du Burkina Faso. *Med Afr Natl* 1990, **37**:100-107.

doi:10.1186/1756-3305-7-5

Cite this article as: Senghor et al: Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar, region of Fatick, Senegal. *Parasites & Vectors* 2014, **7**:5.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Etude 2. Efficacité d'un traitement au praziquantel contre la schistosomiase urinaire et son impact sur la ré-infection chez des enfants en âge scolaire à Niakhar, Sénégal, un foyer simple de transmission saisonnière

Présentation de l'étude

Dans l'étude précédente, nous avons montré des différences significatives de la prévalence entre les établissements des villages qui sont en partie liées aux types des points d'eau fréquentés par les populations. Nous avons par la suite recommandé un traitement de masse au Praziquantel de tous les enfants en âge scolaire car la prévalence et l'intensité de l'infection étaient élevées.

Il était alors important d'évaluer l'efficacité d'une dose de Praziquantel (40 mg/kg) et son impact sur la réinfection. Six villages parmi 11 qui ont été sélectionnés pour le suivi longitudinal, ont été choisis pour cette étude. Le nombre de village a été réduit afin de pouvoir réaliser une analyse détaillée de l'efficacité du praziquantel. Le choix des 6 villages était basé sur le type de points d'eau, la fréquence et la proximité des sites de contact homme-eau. Les villages sélectionnés sont : Gajak avec seulement comme point d'eau le marigot, Godel avec la présence d'une mare et d'un marigot, Logdir avec deux mares dont une proche et l'autre éloignée des concessions, Sass njafaj avec une seule mare peu éloignée, Poudaye avec 3 mares dont deux très proches et une éloignée et enfin Ngalagne kop avec 4 mares dont deux très proches et deux très éloignées.

Nous avons aussi montré dans la première étude que la prévalence chez les enfants de 7 à 9 ans était aussi importante. Cela nous a amené à augmenter la tranche d'âge des enfants en incluant ceux de 5 à 7 ans.

Il nous a fallu alors faire une analyse parasitologique de base que nous avons comparée à la situation après le traitement et après la ré-infection. Cette seconde étude a donc porté sur les enfants âgés de 5 à 15 ans. La population était classée arbitrairement en trois groupes d'âge : 5 - 7, 8 - 10 et 11 - 15 ans. La sélection était faite directement dans leurs villages respectifs. Les critères d'inclusion étaient les suivants: i) résider dans les villages au cours de la saison des pluies 2011, ii) être âgé entre 5 - 15 ans et iii) consentir ou autoriser à participer à l'étude. Cette étude a eu lieu entre Juin 2011 et Mars 2012 avant le démarrage des campagnes de traitement de masse au Sénégal en Avril 2012.

L'étude a été menée en trois phases successives :

Phase 1 : Étude de la prévalence de base dans chacun des villages en Juin 2011.

Phase 2 : Traitement en début Août 2011

Phase 3 : Contrôle de l'efficacité du traitement cinq semaines après son administration en Septembre 2011.

Phase 4 : Suivi de la ré-infection. La ré-infection a lieu pendant la période en eau de 2011 (Juillet à Novembre). Elle a été contrôlée entre Février et Mars 2012, lorsque toutes les collections d'eau sont totalement à sec. Les individus qui étaient à nouveau infectés après guérison et ceux nouvellement infectés étaient considérés comme réinfectés.

La saisie et l'analyse des données ont été réalisées comme dans la précédente étude. Les pourcentages de guérison (CR) et de réduction de l'intensité de l'infection (ERR) ont été considérés pour l'évaluation de l'efficacité du traitement. Le CR est le pourcentage d'enfants positifs pour *S. haematobium* avant traitement et qui sont devenus négatifs après traitement. L'ERR est le pourcentage de réduction de la moyenne géométrique du nombre d'œuf excrété (EGMC) après traitement. Il a été calculé selon la formule suivante: $ERR = [1 - (EGMC \text{ après le traitement} / EGMC \text{ avant le traitement})] \times 100$ (Tchuem Tchuenté *et al.*, 2013). Les différences de l'EGMC entre les villages, le sexe et l'âge ont été comparées en utilisant le test ANOVA.

Principaux résultats

Prévalence et intensité de l'infection de *S. haematobium* chez les enfants avant traitement

Avant traitement, la prévalence moyenne de *S. haematobium* chez les enfants de 5 à 15 ans était de 73,2%. Les niveaux de prévalences dans les villages étaient de 92,3%, 80,5%, 78,8%, 71,4%, 61,5% et 50% à Ngalagne kop, Logdir, Gajak, Poudaye, Godel et Sass njafaj, respectivement. Les intensités de l'infection étaient fortes dans tous les villages et les moyennes géométriques variaient de 1573,9 œufs / 10 ml d'urine dans le village de Ngalagne kop à 128,3 œufs / 10 ml d'urine dans celui de Logdir. Des différences significatives de la prévalence et de l'intensité de l'infection ont été notées entre les villages ($p < 0,001$).

La prévalence et l'intensité de l'infection étaient significativement plus élevées chez les garçons que chez les filles (80,2% et 544,1 œufs/10 ml d'urine ; 64,1% et 177,0 œufs/10 ml d'urine respectivement).

Une augmentation de la prévalence en fonction de l'âge a été observée mais l'évolution de l'intensité de l'infection a montré une diminution dans le groupe le plus âgé (11 – 15 ans). Des différences significatives de la prévalence et de l'intensité de l'infection étaient seulement observées entre les enfants âgés de 5 – 7 ans et ceux de 8 -10 et 11 -15 ans ($p < 0,001$). Il n'y a pas de différence dans ces deux paramètres entre les enfants de 8-10 et 11-15 ans.

Efficacité d'un seul traitement au praziquantel contre *S. haematobium*

En considérant l'ensemble de la population, chaque village, le sexe et l'âge des enfants après traitement au Praziquantel (40 mg/kg), nos résultats ont montré des réductions très significatives des

prévalences et des intensités de l'infection ($p < 0,05$). La prévalence globale de *S. haematobium* est passée de 73,2% avant traitement à 4,6% après traitement. Les prévalences après traitement étaient de 7,3%, 2%, 0%, 9,6%, 1,9% et 2,3% respectivement pour les villages Gajak, Godel, Logdir, Ngalagne kop, Poudaye et Sass njafaj. Les CRs étaient très importants dans tous les villages et variaient de 90,6% à Gajak à 100% à Logdir. Chez les garçons et les filles, les prévalences étaient passées de 64,1% à 2,1% et 80,2% à 6,5%, respectivement. Dans chaque groupe d'âge, les prévalences avaient baissé de 62,4% à 4,2%, de 80,9% à 7,7% et de 81,9% à 1,2% dans les groupes d'âges de 5-7, 8-10 et 11-15 ans respectivement.

L'analyse de l'efficacité du praziquantel par sexe montre aussi une réduction significative de la prévalence de 64,1% à 2,1% et 80,2% à 6,5% chez les garçons et les filles, respectivement ($p < 0,05$). Les CRs et ERRs étaient plus élevés chez les filles. La même tendance a été observée chez les enfants âgés de 11–15 ans. Par contre, les CRs et ERRs les plus faibles ont été notés dans le groupe d'âge 8–11 ans qui étaient plus fortement infectés. Aucune différence de l'efficacité du traitement n'a été observée entre les villages, les sexes et les groupes d'âge ($p > 0,05$).

Les taux de ré-infection après le traitement

La prévalence moyenne de 4,6% obtenue après traitement en septembre 2011 est passée à 13,2% après la période de transmission de 2011. Le pourcentage d'enfants réinfectés pendant cette période était de 9,7%. Nous n'avons pas enregistré de ré-infection dans le village de Sass Njafaj. Par contre dans les 5 autres villages, les niveaux de ré-infection étaient de 8,9%, 1,9%, 6,4%, 12,7% et 25,5% à Gajak, Godel, Logdir, Ngalagne kop et Poudaye, respectivement. Dans chaque village, les prévalences après ré-infection sont significativement plus faibles que celles que nous avons trouvées avant le traitement ($p < 0,05$).

Les niveaux de réinfection étaient significativement plus élevés chez les garçons (12,7%) que chez les filles (5,7%). Les enfants âgés de 5 à 7 ans tous sexes confondus étaient plus réinfectés (11,8%) que ceux âgés de 8 à 10 ans (8,3%) et 11 à 15 ans (7,4%). Mais il n'y a pas de différence significative ($p > 0,05$).

Conclusion

Cette deuxième étude confirme l'endémicité de la schistosomiase urinaire dans le site de Niakhar. Les résultats ont montré qu'un traitement de praziquantel (40 mg/kg) a une grande efficacité sur l'infection à *S. haematobium* dans ce foyer à transmission saisonnière nonobstant les fortes prévalences et intensités de l'infection avant traitement. Globalement, les prévalences après réinfection sont très faibles comparées à celles d'avant traitement. Un seul traitement au praziquantel

a donc un impact positif sur la ré-infection de *S. haematobium* à Niakhar et ceci à cause de la saisonnalité de la transmission. Ces résultats suggèrent qu'une répétition de traitement de masse annuel pendant quelques années permettra de réduire considérablement la prévalence et de prévenir la morbidité chez les populations de la zone de Niakhar.

Ce travail a été soumis pour publication au journal PLOS ONE

PLOS ONE

Efficacy of Praziquantel Treatment against Urinary Schistosomiasis and its Impact on the Occurrence of Re-infection in School Children in Niakhar, Senegal, a Single Seasonally Transmission Focus

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Research Article
Full Title:	Efficacy of Praziquantel Treatment against Urinary Schistosomiasis and its Impact on the Occurrence of Re-infection in School Children in Niakhar, Senegal, a Single Seasonally Transmission Focus
Short Title:	Urinary Schistosomiasis: Efficacy of Praziquantel and Re-infection
Corresponding Author:	Bruno SENGHOR, Ph.D Institut de recherche pour le developpement Dakar, SENEGAL
Keywords:	Urinary schistosomiasis; seasonal-transmission; praziquantel; re-infection; Niakhar; Senegal
Abstract:	<p>Background Human schistosomiasis is a significant health problem at Niakhar, Senegal. In this area, the transmission of <i>S. haematobium</i> occurs seasonally and any control strategy has been implemented despite high prevalence previously reported. This study aimed to determine the i) current prevalence of <i>S. haematobium</i> in children at Niakhar, ii) to assess the efficacy of praziquantel against <i>S. haematobium</i> and iii) to monitor the re-infection pattern.</p> <p>Methods The study was carried out in 329 school children (5 - 15 years) enrolled in six villages at Niakhar. To determine the baseline prevalence of <i>S. haematobium</i>, parasitological screening was performed, then a single dose of PZQ 40mg/kg was administered to each child. The efficacy of PZQ treatment and the re-infection were monitored 5 and 12 weeks, respectively after the drug administration.</p> <p>Principal Findings At the baseline, the overall prevalence of <i>S. haematobium</i> and the infection intensity were 73.2% and 356.1eggs/10 ml of urine with significant differences between villages. These two parameters were higher in the villages where the network of ponds and back water is dense and close to the concessions. The prevalence of the disease is more important in children between 8 to 15 years and males individuals were significantly more infected than females. A single dose of PZQ significantly reduced the prevalence of <i>S. haematobium</i> infection with cure rates between 89.4% and 100%. The eggs reduction rates also ranged between 77.6% and 100%. The overall rate of re-infection was lower (9.7%) than the baseline (73.2%), and was significantly higher in male children than females.</p> <p>Conclusion Niakhar remains a hot spot of urinary schistosomiasis in Senegal. A single dose of PZQ reduced significantly the transmission of the disease indicating that this drug could be used to control urinary schistosomiasis at Niakhar.</p>
Order of Authors:	<p>Bruno SENGHOR, Ph.D</p> <p>Omar T Diaw</p> <p>Souleymane Doucoure</p> <p>Seydou N Sylla</p> <p>Mouhamadane M Seye</p> <p>Idrissa Talla</p> <p>Cheikh T Bâ</p> <p>Aldiouma Diallo</p>

Cheikh Sokhna

Suggested Reviewers:

Opposed Reviewers:

Additional Information:

Question

Response

Financial Disclosure

The author(s) received no specific funding for this work

Please describe all sources of funding that have supported your work. A complete funding statement should do the following:

Include **grant numbers and the URLs** of any funder's website. Use the full name, not acronyms, of funding institutions, and use initials to identify authors who received the funding.

Describe the role of any sponsors or funders in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If they had **no role** in any of the above, include this sentence at the end of your statement: *"The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript."*

If the study was **unfunded**, provide a statement that clearly indicates this, for example: *"The author(s) received no specific funding for this work."*

* typeset

Competing Interests

The authors have declared that no competing interests exist

You are responsible for recognizing and disclosing on behalf of all authors any competing interest that could be perceived to bias their work, acknowledging all financial support and any other relevant financial or non-financial competing interests.

Do any authors of this manuscript have competing interests (as described in the [PLOS Policy on Declaration and Evaluation of Competing Interests](#))?

If yes, please provide details about any and all competing interests in the box

1 **Efficacy of Praziquantel Treatment against Urinary Schistosomiasis and its Impact on**
2 **the Occurrence of Re-infection in School Children in Niakhar, Senegal, a Single**
3 **Seasonally Transmission Focus**

4

5 Bruno Senghor^{1,2}, Omar Talla Diaw⁴, Souleymane Doucoure¹, Seydou N Sylla^{1,3}, Mouhamadane
6 Seye⁴, Idrissa Talla⁵, Cheikh T Bâ², Adiouma Diallo¹, Cheikh Sokhna^{1,8}

7 ¹Institut de Recherche pour le Développement, UMR 198 (URMITE), Campus International de Hann,
8 IRD, BP 1386, CP 18524 Dakar, Sénégal. Tel: +221338493621. Fax: +221338324307.

9 ²Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Département de Biologie Animale, BP 5005, Dakar, Senegal,
10 Tel: +221338250530.

11 ³Université Gaston Berger de Saint Louis, UFR Sciences Appliquées et Technologies, BP 234, Saint
12 Louis, Senegal. Tel: +221339611906.

13 ⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, ISRA, route des Hydrocarbures, Bel Air, Dakar,
14 Senegal.

15 ⁵Programme national de lutte contre les bilharzioses et les géo-helminthiases, ministère de la santé et
16 de l'action sociale, Dakar, Sénégal.

17 ⁸Corresponding author: Cheikh Sokhna, address above. E-mail address below.

18 E-mail addresses:

19 BS: bruno.senghor@ird.fr

20 OTD: otdiaw2012@gmail.com

21 SD: souleymane.doucoure@ird.fr

22 SNS: seydou.nourou.sylla@ird.fr

23 MS: mouhamadane.seye@yahoo.fr

24 IT: idrissatalla@yahoo.fr

25 CTB: cheikhti.ba@gmail.com

26 AD: aldiouma.diallo@ird.fr

27 CS: cheikh.sokhna@ird.fr

28 **Abstract**

29 **Background**

30 Human schistosomiasis is a significant health problem in Sub Saharan Africa and the
31 Praziquantel (PZQ) is currently the drug of choice for the treatment of the disease. . The
32 transmission of *S. haematobium* occurs seasonally at Niakhar (central Senegal) where any
33 control strategy has been implemented despite high prevalence reported in previous studies.
34 This study aimed to determine the i) current prevalence of *S. haematobium* in children at
35 Niakhar, ii) to assess the efficacy of PZQ against *S. haematobium* and iii) to monitor the re-
36 infection pattern.

37 **Methods**

38 The study was carried out in a cohort of 329 school-age children (5 – 15 years) enrolled in six
39 villages in Niakhar, to determine the baseline prevalence of *S. haematobium*, parasitological
40 screening was performed, then a single dose of PZQ 40mg/kg was administrated to the whole
41 population. The efficacy of PZQ treatment and the patterns of re-infection were monitored
42 respectively 5 and 12 weeks after taking the drug.

43 **Principal Findings**

44 At baseline, the overall prevalence and the infection intensity were 73.2% and 356.1eggs/10
45 ml of urine. Significant differences in the prevalence and intensity of *S. haematobium*
46 infection were noted between villages. These two parameters were higher in the villages
47 where the network of ponds and back water is dense and close to the concessions. The
48 transmission of *S. haematobium* is age and sex depends. The prevalence of the disease is more
49 important in children between 8 to 15 years and males individuals were significantly more
50 infected than female. A single dose of PZQ significantly reduced the prevalence of *S.*
51 *haematobium* infection from 73.2% to 4.6% and the geometric mean intensity of infection
52 from 356.1 to 43.3 eggs/10 ml of urine. The cure rates ranged between 89.4% and 100%. The
53 eggs reduction rates also ranged between 77.6% and 100%. Two to three months after the

54 period of transmission, the overall rate of re-infection was lower (9.7%) than the baseline
55 (73.2%), and was significantly higher in male children than females.

56 **Conclusion**

57 The Niakhar study area is one of the hot spots of urinary schistosomiasis in Senegal with
58 differences in transmission between villages. A single dose of 40 mg/kg of PZQ has a
59 significant impact on the prevalence, intensity of infection and re-infection. These results
60 provide a basis for a possible implementation urinary schistosomiasis control program in
61 Niakhar.

62 **Keys world:** Urinary schistosomiasis; Seasonal-transmission; Praziquantel-treatment; Re-
63 infection; Niakhar; Senegal

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

76

77

78

79

80 **Introduction**

81 Human schistosomiasis remains a significant public health importance worldwide [1]. The
82 Sub-Saharan Africa is the most affected region encompassing 90% of 207 millions of
83 schistosomiasis cases recorded in the world [1,2]. The burden of the schistosomiasis is
84 exacerbated in low income countries where the access to clean water and regular sanitation
85 system is limited [3,4]. The disease is caused by five *Schistosoma* species: *S. haematobium*,
86 *mansoni*, *japonicum*, *intercalatum*, and *mekongi* [5,6]. In sub-Saharan Africa, *S. haematobium*
87 and *S. mansoni* are the predominant species causing respectively urogenital and intestinal
88 schistosomiasis [5,6]. In areas with permanent water collections, these two species can be co-
89 endemic[7]. In contrast, in seasonal transmission areas, only *S. haematobium* is endemic
90 because its intermediate host, the snail of the genus *Bulinus*, can resist to the desiccation
91 during the 7 to 8 months of the dry season, contrary to the snails of genus *Biomphalaria*, the
92 intermediate host of *S. mansoni* [8,9]. Currently, in endemic areas, the control of
93 schistosomiasis disease is based on chemo-preventive strategies targeting school-aged
94 children and communities at high risk of the disease transmission. The preventive treatment
95 consists of a single oral dose of 40mg/kg Praziquantel (PZQ) without a prior diagnostic of
96 *Schistosoma sp.* [3,10]. The PZQ is also the drug of choice for the treatment of
97 schistosomiasis due to its high efficacy against all schistosome species infecting humans [11].
98 The implementation in the past 10 years of national control programs based on mass PZQ
99 administration in school age-children, has allowed to reduce significantly the transmission of
100 schistosomiasis in sub-Saharan Africa [10]. Despite few reports of treatment failures [12,13],
101 the majority of studies showed a good efficacy of PZQ, with high eggs reduction rates (ERRs)
102 in the urine in foci of intense *S. haematobium* transmission and especially in low-to-moderate
103 transmission areas where the risk of re-infection is generally low [7,14,15]. The rate and
104 intensity of re-infection post-PZQ chemotherapy vary between schistosome species, the

105 dynamic of the transmission and the level of endemicity [7]. In areas of permanent
106 schistosomiasis transmission, the efficacy of the treatment is enhanced when the PZQ is
107 administered when the level of transmission of the disease is low [16]. However, little
108 information is available on the efficacy of PZQ mass administration against *S. haematobium*
109 and the re-infection after the treatment when the disease occurs seasonally in temporally
110 ponds and/or backwaters during the rainy season. It is the first survey on the dynamics of
111 transmission and impact of treatment on the re-infection in an area where *S. haematobium* is
112 seasonal in temporary ponds in Senegal. In Gambia, in individuals in contact with temporary
113 ponds, the prevalence and re-infection rate of *S. haematobium* remained high 3 months after
114 treatment with PZQ while the ERRs were important[17]. In South-West of Niger, the
115 effectiveness of the treatment with a single dose of PZQ was better in the village located
116 along a temporary pond than in the village near to an irrigated area of the Niger River Valley
117 where the transmission is permanent [18]. In Senegal, *S. haematobium* and *S. mansoni* coexist
118 in few regions like as in Senegal River Basin (SRB), [19], the region of Kolda [20]and the
119 region of Tambacounda [21], respectively in the north, south and the west of the country. In
120 the rest of the country, except the capital Dakar, only *S. haematobium* is endemic and the
121 disease is most prevalent in school age children [22]. Around the 'lac de Guiers', in SRB, a
122 study showed that following a single treatment, re-infection was rapid with prevalence's and
123 mean egg counts of *S. haematobium* reaching pretreatment levels within 7 months [23]. In
124 Niakhar area, in central Senegal, the hydro-geographical system is only constituted by
125 temporal ponds and backwater. *S. haematobium* transmission occurs seasonally between July
126 and November with high prevalence and intensity of infection [24]. The population of
127 Niakhar has no access to PZQ and until now, no mass drug administration against *S.*
128 *haematobium* has been performed. The aims of the present longitudinal study were to assess

129 the efficacy of PZQ-based treatment against *S. haematobium* and to monitor the re-infections
130 in Niakhar school-age children.

131

132 **Materials and methods**

133 *Study area*

134 The study was carried out at Niakhar district (14°30 N, 16°30 W), a demographic site survey
135 located in the region of Fatick (Sine-Saloum), 135 km east of Dakar, the capital of Senegal,
136 West Africa. The rainy season spans four months (July-October) [25]. The area is a single
137 seasonal transmission focus of urinary schistosomiasis. *S. haematobium* transmission sites
138 consisted of only ponds and backwater that were made from July to December. From January
139 until the end of June, the population of Niakhar is not exposed to *S. haematobium* as all water
140 collections are dry. The study population included school-age children between 5 – 15 years
141 enrolled from six villages of Niakhar: Gajak, Godel, Logdir, Sass njafaj, Ngalagne kop and
142 Puday. In the villages of Gajak and Godel the backwater are used specially for bathing,
143 swimming, laundry, fetching water, washing of pets and fishing while in Sass njafaj,
144 Ngalagne kop, Poudaye and Logdir these activities except fishing are done in the ponds. The
145 hydrological network varies from village to village. It is very dense at Ngalagne kop, Puday
146 and Logdir where the ponds are near to the concessions. In addition, the village of Logdir is
147 crossed by a backwater. At Sass njafaj there is no backwater and ponds are rare and fare from
148 the concessions. The same situation is observed at Godel where one part of the backwater is
149 salty. At Gajak, there is no pond but the village is bordered by a large backwater near the
150 concessions (Figure 1).

151 There was no mass PZQ administration before the study. A more detailed description of the
152 Niakhar study area has been given elsewhere [24,26]

153

154 ***Study design***

155 This study is a longitudinal cohort survey before and after a treatment with PZQ. The six
156 villages were enrolled according to their *S. haematobium* prevalence reported in a previous
157 study [24]. The study was conducted between June 2011 and March 2012. The inclusion
158 criteria were: i) to reside in the studied villages during the rainy season, ii) to be aged between
159 5 - 15 years and iii) to consent to participate in the study. At the beginning of the study, in
160 June 2011, the population of study was not in contact with water collections because Niakhar
161 area was dry from December 2010 to June 2011 (Figure 2). The study was conducted in three
162 successive phases:

163 - **Study of the baseline prevalence of *S. haematobium* in Niakhar:** this phase was
164 conducted in June 2011, before the beginning of the 2011 transmission season. At these time
165 point, a baseline urine examination was conducted in all children selected for the study. A
166 child is considered infected by *S. haematobium* if at least one egg is found in urine sample
167 during the microscopic observation.

168 -**Monitoring the efficacy of PZQ treatment:** in early August 2011, after the baseline phase,
169 PZQ (40 mg/kg) was administered to all the children, infected or not at the health centers of
170 the study area in the presence of a nurse. Five weeks, after treatment, in September 2011, one
171 urine sample was collected from each child to assess the efficacy of the treatment. Each
172 individual is considered cured if no egg was found in the urine sample examined.

173 -**Monitoring the re-infection:** the re-infections were monitored between February to March
174 2012 when all water collections are totally dry and *S. haematobium* transmission does not
175 occur. Urine samples were collected to determine the rate of re-infection. This monitoring of
176 the re-infection involved children who were cured after the PZQ administration and
177 individuals who were negative at the baseline. Each negative individual during the September

178 2011 survey of PZQ treatment efficacy is considered re-infected if at least one egg was found
179 in the urine sample.

180 *Urine Samples collection and microscopic analysis for the detection of S.*
181 *haematobium eggs*

182 For each individual, urine samples were collected in the field between 10 and 14 a.m., and
183 transferred to the Niakhar laboratory for parasitological analysis during the same day. Ten ml
184 of each urine sample was shaken to ensure the dispersal of eggs before the filtration through
185 Millipore® SX0001300 Swinnex® Syringe Filter. The filtration is followed by microscopic
186 examination for the detection of *S. haematobium* eggs according the method developed by
187 Plouvier et al. [27]. The infection intensity was classified as light (1 - 49 eggs/10 ml of urine)
188 or heavy (≥ 50 eggs/10 ml of urine), as defined by the World Health Organization [4].

189 *Ethical approval*

190 The study was part of a larger investigation on schistosomiasis epidemiology, transmission
191 and control in Senegal and which was approved by the Senegalese National Ethics Committee
192 (reference n° SN11/57). The objectives of the study were explained to the children and to
193 their parents or legal guardians from whom written informed consent was obtained.

194 *Statistical analysis*

195 Data from each village were recorded using the Epi-Info, version 3.5.1 and analyzed using
196 STATA 11.1. The relationships between characteristics of *S. haematobium* infection
197 (prevalence, intensity and re-infection) and other variables, such as the location of villages,
198 sex and age of children, were tested at the baseline. Prevalence comparisons were performed
199 using the chi-squared test and Fisher's exact modification of the 2x2chi-squared test [28]. For
200 infection intensity values, the Geometric Means of Williams was used to calculate the Eggs

201 Geometric Mean Count (EGMC) in only positive individuals. PZQ efficacy was measured by
202 determining both cure rate (CR) and egg reduction rate (ERR). The CR is the percentage of
203 children positive for egg-patent infection becoming negative after treatment. The ERR is the
204 percentage reduction in EGMC, as measured by *S. haematobium* eggs, after drug treatment of
205 children with egg-patent infections at baseline. The ERR was calculated as $[1 - (\text{EGMC after}$
206 $\text{treatment} / \text{EGMC before treatment})] \times 100$ [29]. EGMC among different groups was
207 compared using ANOVA. In all case, a *P*- value < 0.05 was taken to indicate statistical
208 significances.

209 **Results**

210 *Baseline prevalence and intensity of S. haematobium infection by village, sex and* 211 *age*

212 Six villages Gajak, Godel, Logdir, Ngalagne, Puday and Sass njafaj were selected for the
213 study. A total of 329 subjects were enrolled at the baseline. The overall age mean and sex
214 ratio m/f were 8.8 (SD, 3.1) years and 1.4, respectively. The population was arbitrary
215 classified into three age-groups 5 – 7, 8 – 10 and 11 – 15 years. Table 1 summarizes the
216 demographic characteristics of the cohort.

217 Among the 329 individuals examined at baseline, 241 (73.2%) were infected by *S.*
218 *haematobium* and the 88 others were negative (Table 2). The prevalence of *S. haematobium*
219 infection were 92.3%, 80.5%, 78.8%, 71.4%, 61.5% and 50 % at Ngalagne kop, Logdir,
220 Gajak, Poudaye, Godel and Sass njafaj, respectively. The EGMC varied from 1573.9 eggs/10
221 ml of urine in the village of Ngalagne kop to 128.3 eggs/10 ml of urine in Logdir. Significant
222 differences in the prevalence and intensity of infection were noted between villages ($p <$
223 0.001). The infection rate was higher in males (80.2%) than females (64.1%). The same trend
224 was observed with the GEMC which was 544.1 and 177.0 eggs/10 ml of urine for males and

225 females, respectively. Significant differences in prevalence and EGMC according to sex were
226 noted ($p < 0.05$) (Table 3). Prevalence increased according to age with 62.4%, 80.9% and
227 81.9% in 5 – 7, 8 – 10 and 11 – 15 age-groups, respectively. But the EGMC was higher in the
228 8 -10 year age-group. Significant differences in the prevalence and intensity of infection were
229 noted between the age-group 5 – 7 years and the others ($p < 0.001$) (Table 3).

230 *Efficacy of PZQ against S. haematobium according to villages, sex and age*

231 Among the 241 infected children, 237 were treated and monitored for PZQ efficacy. Four
232 children were not treated due to their absence. A total of 222 children were cured after
233 treatment. The overall CR and ERRs were 93.7% and 87.8%, respectively. After the
234 treatment, the overall prevalence and the EGMC were significantly reduced. The prevalence
235 of *S. haematobium* infection decreased from 73.2% to 4.6% ($p < 0.05$). Significant decreases
236 of prevalence were noted in each village ($p < 0.05$). Prevalence after PZQ treatment were
237 9.8%, 7.3%, 2.3%, 2%, 1.9% and 0%, in the village of Ngalagne kop, Gajak, Sass njafaj,
238 Godel, Puday and Logdir, respectively. The same trend was observed with the intensity of the
239 infection. The EGMC decreased from and 356.1 to 43.3 eggs/10 ml of urine ($p < 0.05$). CRs
240 were high in all six villages and varied between 89.4% at Ngalagne kop to 100% at Logdir.
241 The ERRs were also high and ranged from 77.6% to 100% at these same villages. No
242 significant difference was observed in the CR and ERRs between villages ($p > 0.05$) (Table
243 2).

244 In the 237 treated children, 222 were totally cured and eggs were found in urine samples of
245 only 15 (6.3 %) children. Among these 15 children, 5 had excreted over 49 eggs/10 ml of
246 urine and three of them lived in the village of Ngalagne kop where the highest EGMC (1573.9
247 eggs/10 ml of urine) has been recorded during this study.

248 The efficacy of PZQ against *S. haematobium* infection according to sex and age are shown in
249 table 3. After the treatment, a significant reduction of the prevalence was observed.

250 Prevalence's decreased significantly from 64.1% to 2.1% ($p < 0.05$) and 80.2% to 6.5% ($p <$
251 0.05) in female and males, respectively. In female population, the CR and ERR were 96.7%
252 and 91.1%, respectively. These two parameters were also high in male individuals with CR at
253 91.8% and the EER at 89.7%. In the whole population, 12 males and 3 females' individuals
254 were excreting eggs after the treatment with PZQ. No significant difference in CR and ERR
255 was noted between females and males children ($p > 0.05$). In each age-group, pre-treatment
256 prevalence's were significantly reduced from 62.4% to 4.2%, 80.9% to 7.7% and 81.9% to
257 1.2% in the 5 – 7, 8 – 10 and 11 – 15 age groups, respectively ($p < 0.05$). The highest CR
258 (96.9%) and ERR (94.3%) were recorded in the 11 – 15 age group. These parameters were
259 lowest in the 8 – 10 years age group and were at 91.7% and 85.3% for the CR and ERRs,
260 respectively. But there was no significant difference in the CR between age-groups ($p < 0.05$).

261 *Re-infection pattern by villages, sex and age*

262 The study of the re-infection involved a total of 310 children (222 children who were cured
263 after the PZQ administration and the 88 others who negative at the baseline). Among these
264 312 children who were negative after the control of the treatment in September 2011, 30
265 infections cases (9.6%) from the 2011 transmission season were detected between February to
266 March 2012. In these 30 cases, 2 cases are detected in the group of children negative at the
267 baseline and are considered as new infections and the 28 cases are re-infections from the
268 group previously cured with the PZQ administration. The two children newly infected are
269 males, under 5 and 6 years and live in the village of Gajak and Ngalagne kop. These two
270 children were slightly infected (35 and 25 eggs / 10 ml of urine).

271 The overall prevalence in the population at this time point was 13.8 (Figure 2 and Table 2).
272 No re-infection has occurred in the village of Sass where the lowest baseline prevalence was
273 recorded. In the others villages, the re-infection rates were 26%, 12.8%, 8.9%, 6.4% and
274 1.9%, at Puday, Ngalagne kop, Gajak, Godel and Logdir, respectively. The Patterns of re-

275 infection with *S. haematobium* showed statistical difference between villages ($p < 0.001$).
276 Compared to the baseline, in each village, the prevalence after re-infection was significantly
277 lower ($P < 0.05$). The overall EGMC (48.3 eggs/10ml of urine) were significantly lower than
278 the baseline (356.1 eggs/10 ml) ($p < 0.001$) (Table 2). The re-infection rate was significantly
279 higher in males (12.7%) than in females (5.7%) ($P < 0.05$). The re-infection rate was more
280 important in children aged between 5 to 7 years (11.8%) than in the groups of 8-10 and 11 -
281 15 which have quite similar re-infection rates, 8.3% and 7.4%, respectively. However, there
282 was no significant difference on *S. haematobium* re-infection between the different age groups
283 ($p > 0.05$) (Table 3).

284 **Discussion**

285 In the present study, high prevalence and EGMC of *S. haematobium* infection are noticed at
286 baseline in the area of Niakhar. These results are in line with a recent investigation that has
287 shown high prevalence and infection intensity of *S. haematobium* in the Niakhar district [24].
288 This high level of infection confirms also that Niakhar is a hot spot of *S. haematobium*
289 transmission in Senegal. In endemic areas, the level of *S. haematobium* transmission is very
290 important in school age-children between 5 – 15 years [30], therefore this may explain the
291 high prevalence noticed in this study which targeted only school aged children.

292 This epidemiological situation of Niakhar marked by a high level of urinary schistosomiasis
293 transmission is also attributable to the lack health education and poor hygiene conditions
294 resulting in permanent contact with ponds and backwater which are the main places of *S.*
295 *haematobium* transmission during the rainy season. In addition, before this investigation, any
296 strategy, i.e. PZQ mass administration, has been implemented to control the transmission of
297 the disease [31].

298 In this study, high prevalence of *S. haematobium* were noticed in all the study area, however,
299 the level of infection is heterogeneous between the villages. The repartition of ponds and
300 backwater may result in heterogeneity of the prevalence and intensity of *S. haematobium*
301 infection throughout the study site. This may have an implication in the heterogeneity found
302 in the transmission of the disease in Niakhar where the highest level of *S. haematobium*
303 infection is recorded in villages with highest density of ponds and backwater which are near
304 the concession like at Ngalagne kop, Logdir, Gajak, Puday. The lowest level of transmission
305 is found in Sass njafaj which has a poor ponds system with a limited frequentation by the
306 population. Therefore, the results of this study indicate once again the importance of the
307 hydro-geographical network in the epidemiology and transmission of *S. haematobium* disease
308 [17,32]. This heterogeneity between the villages may also be explained by the access to tap
309 water which is present in some concessions at Niakhar or social behavior [24]. In Niakhar
310 study area, it has been shown that the level of frequentation of ponds and backwater is
311 strongly linked to social behavior and the contact with these water collections is more
312 important in male children and particularly those between 8 to 12 years [24]. Therefore, this
313 could explain the difference of infection observed in males children compared to females
314 individuals and the highest prevalence in boys between 8-10 and 11-15 years age groups. This
315 situation in Niakhar required the implementation PZQ mass administration. Until now, the
316 efficacy of control strategy based on PZQ mass administration is poorly documented in strict
317 single seasonally *S. haematobium* transmission foci. This study revealed that a single dose of
318 40 mg/kg of PZQ reduced significantly the prevalence and infection intensity in all villages of
319 the study area, confirming the efficacy of PZQ in Niakhar. The CR and ERRs obtained are
320 higher than those observed in previous studies conducted in strict single seasonally *S.*
321 *haematobium* transmission foci [17] despite that the treatment was done during the
322 transmission period. Indeed, to better assess the impact of treatment, it is recommended to

323 give PZQ in the period of non-transmission in areas where water-contact are seasonal.
324 However, this does not impact on the treatment outcome as at Niakhar the transmission of *S.*
325 *haematobium* is seasonally strict and occurs from July to November, hence the adult worms
326 from the previous transmission periods were exposed to the August 2011 PZQ treatment.
327 However, one urine sample per child was collected, that could be a limit explaining the high
328 CR obtained in this Niakhar study. The examination of two or more samples of urine per child
329 should be more appropriate for estimating the CR and ERR because of the day-to-day
330 variation in egg excretion in urine [33]. Five weeks after treatment, eggs were found in 6.3%
331 of treated children in this study especially in the boys group in which the highest pre-
332 treatment EGMC was observed. The same trend was also observed in young Gambians [17].
333 In this Niakhar study, for each child, the PZQ was given under the supervision of a nurse at
334 the health center, therefore, the probability that these excreted eggs come from the non-
335 compliance to PZQ is unlikely. However, eggs excretion is very common after the treatment
336 with PZQ [7] and sometime dead *S. haematobium* eggs can be excreted by month after the
337 drug administration [34]. Therefore, to fully assess the PZQ efficacy, it would more
338 appropriate to determine the viability of the eggs still excreted by some individuals (6.3%).
339 The treatment period could also be the cause of the presence of eggs in these children. Indeed,
340 some infection could occur in July and August 2011 just before PZQ administration and when
341 the rainfall and the frequentation of transmission sites are high. The PZQ administrated during
342 this period is not effective against the immature stages of the parasite infecting the
343 children.[35]. In September 2011, these immature forms have reached the adult stage and
344 their eggs can be detected during the evaluation of the efficacy of PZQ. Therefore, this rate of
345 eggs excretion after treatment could be very low or even zero if the treatment was
346 administered during non-transmission and control carried out before July in addition to the
347 egg viability assessment. However, the present study shows the difficulty to reach à CR of

348 100% with a single dose of PZQ in children in which the intensity of the infection is very high
349 before the treatment [36]. A supplementary dose of PZQ could be necessary to cure
350 completely this category of infected individuals in the Niakhar study area. In this strict
351 seasonally transmission area there was no difference in the CR and ERRs of *S. haematobium*
352 between villages after the PZQ mass administration. It seems that these parameters were not
353 linked to the intensity of the infection in the villages at the baseline, before administrating the
354 PZQ. These results are contrary to that observed in highly endemic villages in Côte d'Ivoire
355 where the transmission is permanent [37] and report indicating a clear association between the
356 PZQ efficacy and infection intensity prior to the treatment against *S. mansoni* [38].
357 However, the use of PZQ could represent a valuable strategy for controlling the transmission
358 of *S. haematobium*. Indeed, the re-infection rate decrease significantly compared to the
359 baseline and a low rate of re-infection was observed at the end of the 2011 transmission
360 season in the study site. This low level of re-infection could be explained by the fact the PZQ
361 treatment reduced considerably egg carriage in the children resulting therefore to a decrease
362 of the snail's contamination in the transmission sites [39] but also by the ecology of the area
363 of study characterized by short time period of transmission. Little re-infection were reported
364 in an area where the transmission sites were constituted of seasonal rain-fed ponds when PZQ
365 treatment is administered and monitored in the non-transmission period [17]. This is also the
366 case in some transmission foci where populations use also only temporal ponds [18,37].
367 During this study, the re-infection is more important in males in which group new infections
368 were detected than in females. This difference may be due to cultural, behavioral and social
369 factors that may bring boys to be more in contact with water collections than girls [24].
370 The current results show that the efficacy of PZQ against *S. haematobium* has been
371 satisfactory and treatment has an effect on the occurrence of re-infection in all villages

372 studied. This suggests that PZQ mass administration could be used to reduce significantly
373 children carriage of *S. haematobium* in seasonally strict transmission areas in Senegal.

374 **Conclusion**

375 The baseline results confirm that urinary schistosomiasis is a public health problem in
376 Niakhar District. Treatment with PZQ has a good efficacy against *S. haematobium* and a
377 significant effect on the occurrence of re-infection in the seasonal transmission area of
378 Niakhar. These results suggest that if an annual mass treatment is administered for several
379 years, urinary schistosomiasis could be significantly reduced and even eliminated in the
380 Niakhar area.

381 **Acknowledgements**

382 We would like to thank the pupils, their parents, Chief of the Niakhar health centers. We
383 thank the investigators of IRD at Niakhar and Paul Senghor for the field and technical
384 assistance respectively. We also thank the National Program for Fight against Schistosomiasis
385 in Senegal for their assistance in the treatment.

386 **References**

- 387 1. Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J (2006) Schistosomiasis and water
388 resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at
389 risk. *Lancet Infect Dis* 6: 411–425.
- 390 2. Utzinger J, Raso G, Brooker S, de Savigny D, Tanner M, et al. (2009) Schistosomiasis and
391 neglected tropical diseases: towards integrated and sustainable control and a word of
392 caution. *Parasitology* 136: 1859–1874.
- 393 3. Hotez P, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Sachs SE, et al. (2007) Control of
394 neglected tropical diseases. *N Engl J Med* 357: 1018–1027.

- 395 4. WHO (2002) Report of the who informal consultation on the use of praziquantel during
396 pregnancy/lactation and albendazole/mebendazole in children under 24months.
397 Geneva: World Health Organization. 52 p.
- 398 5. Doumenge JP, Mott K, Cheung C, Villenave D, Chapuis O, et al. (1987) Atlas of the global
399 distribution of schistosomiasis. Bordeaux: Presses Universities de Bordeaux.
- 400 6. Grysel B, Katja P, Jan C, Luc K (2006) Human schistosomiasis. *Lancet Infect Dis* 368:
401 1106–1118.
- 402 7. Webster BL, T DO, M SM, Faye DS, Stothard JR, et al. (2013) Praziquantel treatment of
403 school children from single and mixed infection foci of intestinal and urogenital
404 schistosomiasis along the Senegal River Basin: monitoring treatment success and
405 reinfection patterns. *Acta tropica* 28: 292-302.
- 406 8. Hira PR (1968) Studies on the capability of the snail transmitting urinary schistosomiasis in
407 Western Nigeria to survive dry conditions. *West Afr Med J Niger Pract* 17: 153-160.
- 408 9. Diaw OT, Seye M, Sarr Y (1989) Résistance à la sécheresse de mollusques du genre
409 *Bulinus* vecteurs de trématodoses humaines et animales au Sénégal. II. Étude dans les
410 conditions naturelles en zone Nord-soudanienne. *Ecologie et résistance à la sécheresse*
411 *de Bulinus umbilicatus et Bulinus senegalensis*. *Revue Elev Méd Vét Pays trop* 42:
412 177-187.
- 413 10. WHO (2006) Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of
414 anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and
415 programme managers. Geneva: World Health Organization. 62 p.
- 416 11. Fenwick A, Webster JP, Bosque-Oliva E, Blair L, Fleming FM, et al. (2009) The
417 Schistosomiasis Control Initiative (SCI): rationale, development and implementation
418 from 2002–2008. *Parasitology* 136: 1719–1730.
- 419 12. Stelma F, Talla I, Sow S, Kongs A, Niang M, et al. (1995) Efficacy and side effects of
420 praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *Am JTrop Med Hyg* 53:
421 167–170.

- 422 13. Wang W, Wang L, Liang YS (2012) Susceptibility or resistance of praziquantel in human
423 schistosomiasis: a review. *Parasitol Res* 111: 1871–1877.
- 424 14. Ahmed AM, Abbas H, Mansour FA, Gasim GL, Adam I (2012) *Schistosoma haematobium*
425 infections among schoolchildren in central Sudan one year after treatment with
426 praziquantel. *Parasites Vectors* 5: 108.
- 427 15. Mutapi F, Rujeni N, Bourke C, Mitchell K, Appleby L, et al. (2011) *Schistosoma*
428 *haematobium* treatment in 1-5 year old children: safety and efficacy of the
429 antihelminthic drug praziquantel. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e1143.
- 430 16. Augusto G, Magnussen P, Kristensen TK, Appleton CC, Vennervald BJ (2009) The
431 influence of transmission season on parasitological cure rates and intensity of infection
432 after praziquantel treatment of *Schistosoma haematobium* infected schoolchildren in
433 Mozambique. *Parasitology* 136: 1771–1779.
- 434 17. Wilkins HA, Blumenthal UJ, Hagan P, Hayes RJ, Tulloch S (1987) Resistance to
435 reinfection after treatment of urinary schistosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 81:
436 29-35.
- 437 18. Garba A, Campagne G, Tassie JM, Barkire A, Vera C, et al. (2004) Long-term impact of a
438 mass treatment by praziquantel on morbidity due to *Schistosoma haematobium* in two
439 hyperendemic villages of Niger. *Bull Soc Pathol Exot* 97: 7-11.
- 440 19. Ernould JC (1996) *Epidémiologie des schistosomoses humaines dans le delta du fleuve*
441 *Sénégal : phénomène récent de compétition entre Schistosoma haematobium Sambon,*
442 *1907 et S. mansoni (Bilharz. 1852) [PhD thesis]. Medecine Parasitologie. 602 p.*
- 443 20. Diaw OT, Seye M, Sarr Y (1988) *Épidémiologie des trématodoses du bétail dans la*
444 *région de Kolda, Casamance Sénégal. Rev El Méd vét Pays trop* 41: 257-264.
- 445 21. Sy I, Diawara L, Ngabo D, Barbier D, Dreyfuss G, et al. (2008) Schistosomiasis in school
446 children in the Bandafassi region of East Senegal. *Med Trop* 68: 267-271.

- 447 22. Ndir O (2000) Situation des Schistosomoses au Sénégal. In: Chippaux JP, editor. La lutte
448 contre les Schistosomoses en Afrique de l'Ouest. Paris: IRD, pp. 225-236.
- 449 23. De Clercq D, Vercruysse J, Picquet M, Shaw DJ, Diop M, et al. (1999) The epidemiology
450 of a recent focus of mixed *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*
451 infections around the 'Lac de Guiers' in the Senegal River Basin, Senegal. *TM & IH* 4:
452 544-550.
- 453 24. Senghor B, Diallo A, Sylla SN, Doucoure S, Ndiath MO, et al. (2014) Prevalence and
454 intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar,
455 region of Fatick, Senegal. *Parasites Vectors* 7: 5.
- 456 25. Levi P, Adyamagbo A (2003) Tableau de bord des principaux indicateurs
457 sociodémographiques dans la zone de Niakhar (Sénégal). Dakar: IRD.
- 458 26. Delaunay V, Douillot L, Diallo A, Dione D, Trape JF, et al. (2013) Profile: the Niakhar
459 Health and Demographic Surveillance System. *Int J Epidemiol* 42: 1002-1011.
- 460 27. Plouvier S, Leroy JC, Colette J (1975) A propos d'une technique simple de filtration des
461 urines dans le diagnostic de la bilharziose urinaire en enquête de masse. *Med Trop* 35:
462 229-230.
- 463 28. Kirkwood BR, Sterne JA (2003) *Essential medical statistics*. Oxford: Wiley-Blackwell.
464 512 p.
- 465 29. Tchuem Tchuente LA, Sabine C, Momoa J, Stothard R, Rollinson D (2013) Efficacy of
466 praziquantel and reinfection patterns in single and mixed infection foci for intestinal
467 and urogenital schistosomiasis in Cameroon. *Acta Tropica* 128: 275-283.
- 468 30. Jordan P, Webbe G, Sturrock F (1993) *Human Schistosomiasis*. Wallingford: CAB
469 International.
- 470 31. Ahmed AM, Abbas H, Mansour FA, Gasim GI, Adam I (2012) *Schistosoma haematobium*
471 infections among schoolchildren in central Sudan one year after treatment with
472 praziquantel. *Parasit Vectors* 5: 108.

- 473 32. Betterton C, Ndifon GT, Tan RM (1988) Schistosomiasis in Kano State, Nigeria. II. Field
474 studies on aestivation in *Bulinus rohlfsi* (Clessin) and *B. globosus* (Morelet) and their
475 susceptibility to local strains of *Schistosoma haematobium* (Bilharz). *Ann Trop Med*
476 *Parasitol* 82: 571-579.
- 477 33. Engels D, Sinzinkayo E, Gryseels B (1996) Day-to-day egg count fluctuation in
478 *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *Am J Trop Med Hyg*
479 54: 319-324.
- 480 34. McMahon JE, Kolstrup N (1979) Praziquantel: a new schistosomicide against
481 *Schistosoma haematobium*. *Br Med J* 2: 1396-1399.
- 482 35. Magnussen P (2003) Treatment and re-treatment strategies for schistosomiasis control in
483 different epidemiological settings: a review of 10 years' experiences. *Acta Trop* 86:
484 243-254.
- 485 36. King CH, Olbrych SK, Soon M, Singer ME, Carter J, et al. (2011) Utility of repeated
486 praziquantel dosing in the treatment of schistosomiasis in high-risk communities in
487 Africa: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 5: e1321.
- 488 37. N'Goran EK, Utzinger J, N'Guessan AN, Müller I, Zambé K, et al. (2001) Reinfection
489 with *Schistosoma haematobium* following school-based chemotherapy with
490 praziquantel in four highly endemic villages in Côte d'Ivoire. *TM & IH* 6: 817-825.
- 491 38. Utzinger J, N'Goran EK, N'Dri A, Lengeler C, Tanner M (2000) Efficacy of praziquantel
492 against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection.
493 *Trop Med Int Health* 5: 771-778.
- 494 39. Stothard JR, Ameri H, Khamis IS, Blair L, Nyandindi US, et al. (2013) Parasitological
495 and malacological surveys reveal urogenital schistosomiasis on Mafia Island,
496 Tanzania to be an imported infection. *Acta Trop* 128: 326-333.
- 497
- 498

518 **Table 1.** Demographic characteristics of the studied population

519

Villages	Sample size at baseline	Age mean (SD) in years	Sex ratio (M/ F)
Gajak	98	7.8 (2.6)	0.8
Godel	52	8.2 (2.8)	0.8
Logdir	31	8.5 (3.2)	0.6
Ngalagne kop	52	9.1 (2.8)	1.5
Puday	52	8.3 (3)	1.5
Sass ndiafaj	44	9.5 (2.7)	1.3
Total	329	8.8 (3.1)	1.4

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533 **Table 2:** The prevalence and intensity of *S. haematobium* infections in children from six
 534 villages in the Niakhar study area in Central Senegal before treatment with PZQ, 5 weeks post
 535 treatment and re-infection levels at 2 to 3 months after draining of ponds and backwater.
 536

Characteristics <i>S. haematobium</i> infection								
Villages	Gajak	Godel	Logdir	Puday	Ngalagne kop	Sass njafaj	Total	P-value
Baseline (June 2011)								
No. of children infected/examined	77/98	32/52	25/31	37/52	48/52	22/44	241/329	
Prevalence (95%CI)	78.6% (67.2-83.8)	61.5% (47.9-73.5)	80.6% (63.7-90.8)	71.1% (57.7-81.6)	92.3% (81.8-96.9)	50% (35.8-64.2)	73.2% (68.2-77.2)	<0.001
Numbers of infected children treated with PZQ	75	32	25	36	47	22	237	
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	169.8 (119.2-241.8)	189.3 (105.6-339.4)	128.3 (73.8-222.8)	966.6 (581.2-1607.5)	1573.9 (1208.2-2050.4)	276.8 (132.2-580.1)	356.1 (286.1-443.3)	< 0.001
Treatment (August 2011)								
Follow-up efficacy of PZQ 5 weeks post treatment (in September 2011)								
No. of children infected/examined	7/96	1/52	0/31	1/51	5/51	1/44	15/325	
Prevalence (95%CI)	7.3% (3.6-14.3)	2% (0.3-10.3)	0% (0-11)	1.9% (0.3-10.1)	9.8% (4.2-20.6)	2.3% (0.4-11.8)	4.6% (2.7-7.4)	0.219
Numbers of infected treated examined	75	32	25	36	47	22	237	
No of children cured (CR in %)	68 (90.6%)	31 (96.8%)	25 (100%)	35 (97.2%)	42 (89.4%)	21 (95.4%)	222 (93.7%)	0.7
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	38.1 (9.1-139)	30.0		35.0	64.9 (25.2-167.6)	25.0	43.3 (23.1-81.2)	0.144
ERR in %	77.6%	84.1%	100%	96.4%	95.9%	90.9%	87.8%	0.92
re-infection after treatment (September to November 2011)								
Follow-up re-infection 2 to 3 months after transmission period in February and March 2012								
No. of children infected/examined	15/96	2/52	2/31	14/51	11/51	1/44	45/325	
Prevalence (95%CI)	15.6% (9.7-24.2)	3.8% (1.1-12.9)	6.4% (1.8-20.2)	26.9% (16.7-40.2)	21.7% (12.5-34.6)	2.3% (0.4-11.8)	13.8% (10.5-18)	0.002
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	99.9 (45.1-221.3)	215.6 (0-1.1e+13)	462.5 (0-5.7e+11)	30.7 (10-94.5)	12.0 (4.4-33.1)	506.0	48.1 (26.6-86.8)	0.01
No. of children re-infected/surveyed	8/89	1/51	2/31	13/50	6/46	0/43	30/310	
Prevalence (95%CI)	8.9% (4.6-16.7)	1.9% (0.3-10.3)	6.4% (1.7-20.7)	26% (15.8-39.5)	12.8% (5.9-25.2)	0% (0.0-10)	9.7% (6.9-13.5)	<0.001

537

538

539

540

541

542

543

544

545 **Table 3.** The prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* infections in children
 546 from six villages in the Niakhar study area in Central Senegal at baseline, 5 weeks post
 547 treatment and reinfection levels at 2 to 3 months after draining of ponds and backwater,
 548 relative to gender and age.

Characteristics <i>S. haematobium</i> infection							
Variables	Gender			Age			P-value
	Female	Male	P-value	5 - 7 years	8 - 10 years	11 - 15 years	
Baseline (June 2011)							
No. of children infected/examined	91/142	150/187		88/141	85/105	68/83	
Prevalence (95%CI)	64.1% (55.9-71.5)	80.2% (73.9-85.3)	0.001	62.4% (54.2-69.9)	80.9% (72.4-87.3)	81.9% (62.3-88.7)	0.001
Numbers of infected subject treated with PZQ	91	146		88	83	66	
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	177.0 (123.4-253.8)	544.1 (421.4-702.6)	0.001	238.9 (164.4-347.3)	455.6 (313-662.9)	438.7 (299.1-643.3)	<0.001
Treatment (August 2011)							
Follow-up efficacy of PZQ 5 weeks post treatment (in September 2011)							
No. of children infected/examined	3/142	12/183		6/141	8/103	1/81	
Prevalence (95%CI)	2.1% (0.7-6)	6.5% (3.7-10.9)	0.080	4.2% (1.9-8.9)	7.7% (3.9-14.4)	1.2% (0.2-6.7)	0.200
No. of infected treated examined	91	146		88	83	66	
No of children cured (CR in %)	88 (96.7%)	134 (91.8%)	0.7	82 (93.2%)	76 (91.7%)	64 (96.9%)	0.5
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	15.7 (3.7-65.4)	55.8 (25.5-112.9)	0.06	26.5 (8-87.7)	67.0 (26.9-166.5)	25.0	0.109
ERR in %	91.1%	89.7%	0.99	88.9%	85.3%	94.3%	0.99
re-infection after treatment (September to November 2011)							
Follow-up re-infection 2 to 3 months after transmission period in February and March 2012							
No. of children infected/examined	11/142	34/183		22/141	14/103	9/81	
Prevalence (95%CI)	7.7% (4.3-13.3)	18.6% (13.1-24.8)	0.010	15.6% (10.5-22.5)	13.6% (8.2-21.5)	11.1% (5.9-19.8)	0.486
GM egg count/10 ml of urine (95%CI)	37.4 (37.4-12.38)	52.4 (25.2-109.2)	0.012	73.1 (31.8-168.3)	27.8 (9.4-82.4)	38.6 (5.6-263.7)	0.307
No. Of children re-infected/surveyed	8/139	22/173		16/135	8/96	6/81	
Prevalence (95%CI)	5.7% (2.9-10.9)	12.7% (8.5-18.5)	0.001	11.8% (7.4-18.4)	8.3% (4.3-15.6)	7.4% (3.4-15.2)	0.400

549

550

551

552

553

554

555

556

557 **Figure 1.** Map of the study area of Niakhar showing the six villages investigated and the
558 water points

559 **Figure 2.** Study design

560 **Figure3.** Monthly average of rainfall in the Niakhar study area in 2010 and 2011 (Data from
561 the pluviometers)
562

563 **Figure 4:** Flow diagram of the study enrollment, treatment, control treatment and analysis of
564 re-infection

Figure
Click here to download high resolution image

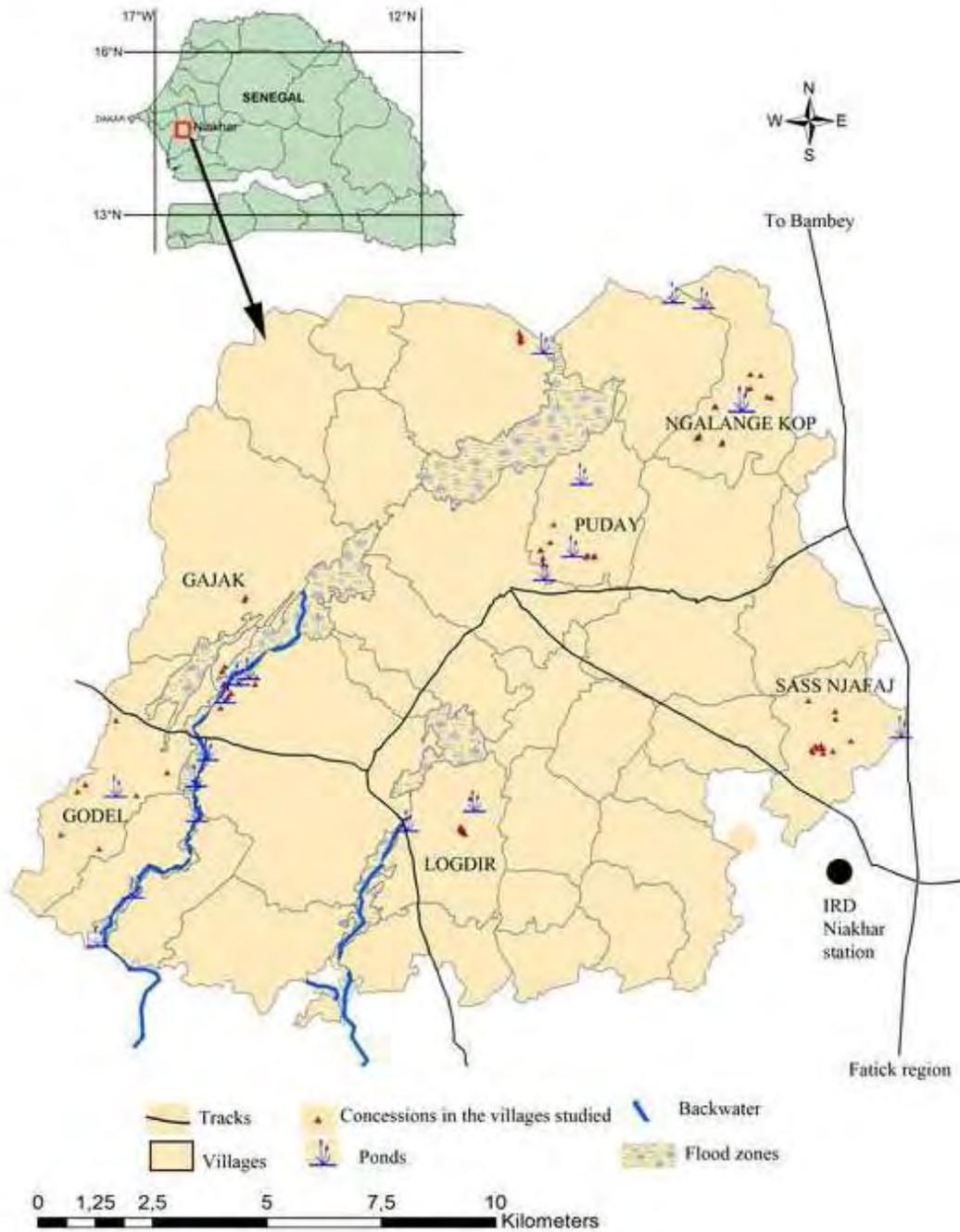


Figure
[Click here to download high resolution image](#)

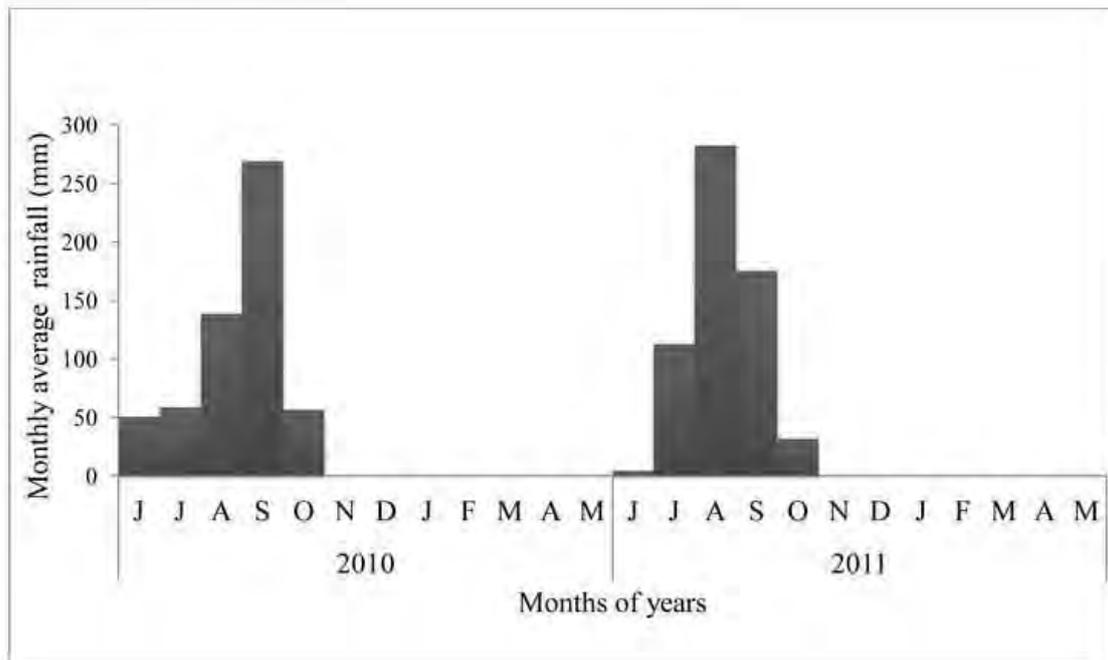
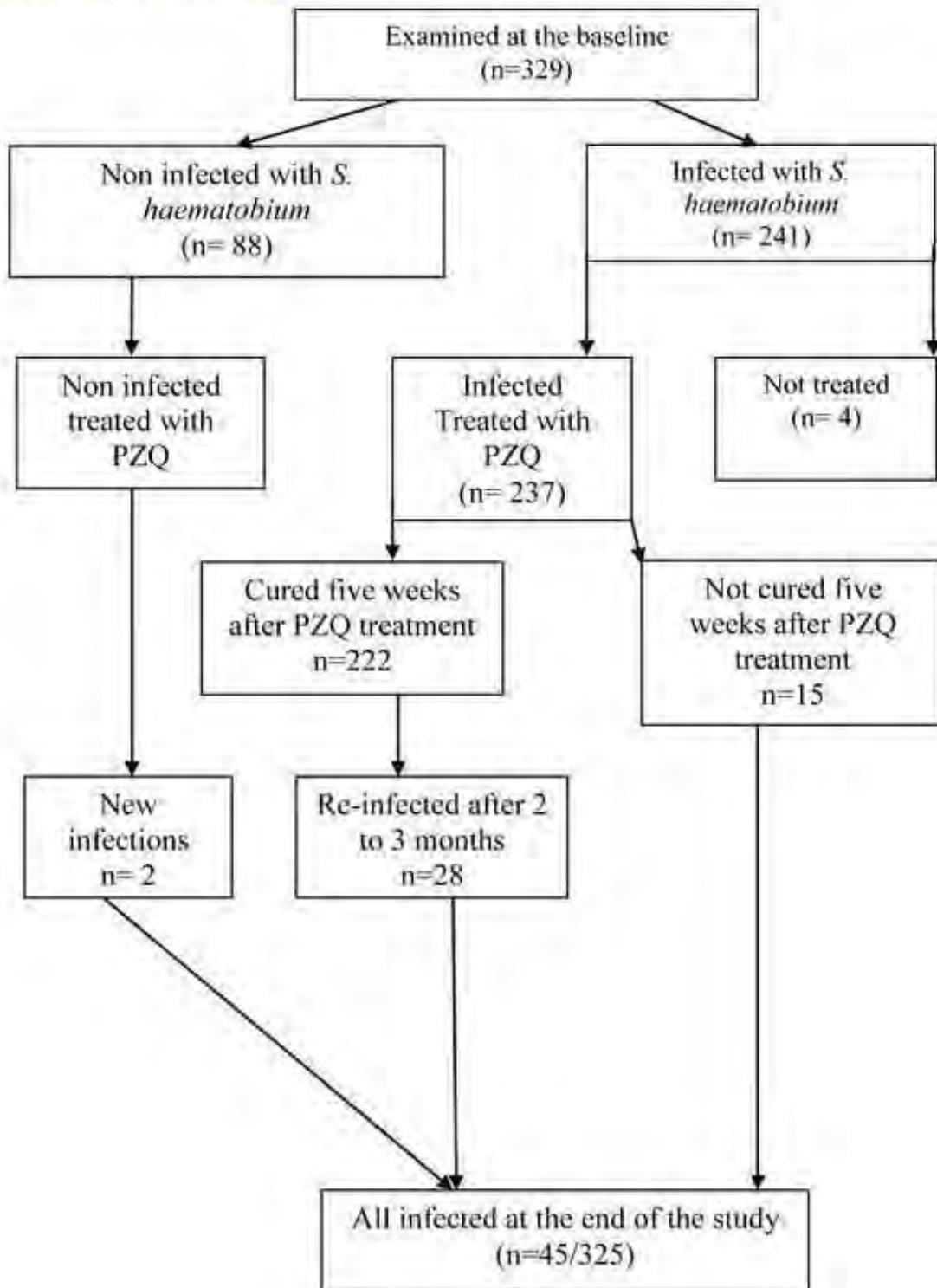


Figure
[Click here to download high resolution image](#)



Etude 3: Etude de la dynamique des mollusques hôtes intermédiaires de *S. haematobium* à

Niakhar, région de Fatick, Sénégal

Nous avons montré dans l'étude précédente une grande efficacité du praziquantel avec des taux de réduction de la prévalence et de l'intensité de l'infection très importants. Comme le médicament ne prévient pas les infections subséquentes, des ré-infections ont été notées dans certains villages même si elles étaient très faibles par rapport à la situation de base. Ce qui montre que la transmission est active dans les différents points d'eau hébergeant les mollusques hôtes intermédiaires. De plus, aucune étude malacologique n'a été réalisée dans ces écosystèmes temporaires, il nous a semblé alors important d'étudier la transmission dans le marigot et les mares qui sont utilisés par les populations suivies. C'est dans ce but que nous avons réalisé une troisième étude portant les mollusques hôtes intermédiaires du parasite *S. haematobium*.

Présentation de l'étude

Cette troisième étude a concerné les sites de transmission au niveau des mares et du marigot de 11 villages incluant les 6 de la précédente étude. Une enquête préliminaire a été réalisée au niveau des points d'eau afin de les répertorier par GPS et de sélectionner les sites à prospecter. La sélection a été faite en se basant sur la proximité avec les concessions et les fréquentations humaines. Au total, 9 sites ont été sélectionnés au niveau du marigot et 17 au niveau des mares. Les objectifs de cette étude malacologique était d'identifier les différentes espèces de mollusques hôtes intermédiaires, d'étudier leur dynamique et leur rôle dans la transmission ainsi que leur écologie afin de suggérer une période optimale de contrôle des populations de mollusques dans cette zone. Cette étude résume donc les différents suivis malacologiques réalisés de 2011 à 2013. En 2011, pour des raisons liées au calendrier et à l'initiation à la technique de collecte des mollusques, le suivi régulier avait démarré à partir de Septembre. Les deux années suivantes, les suivis malacologiques étaient plus complets. Ils ont été réalisés de Juillet jusqu'à l'assèchement des points d'eau en Novembre voire Décembre pour certains.

En 2011 et 2012, les prospections étaient organisées par mois et les collectes réalisées pendant 15 minutes pour chaque site. En 2013, les prospections étaient réalisées à des intervalles réguliers de 15 jours et la durée de collecte augmentée à 30 minutes afin d'avoir plus de données et de mieux comprendre la dynamique des mollusques dans ces écosystèmes pluvio-temporaires.

Les mollusques étaient collectés par une seule personne. Après chaque collecte, ils étaient conservés dans des pots de prélèvements et ramenés au laboratoire de Niakhar où ils ont été étudiés

par site et par village. Le nombre total de mollusques recueillis pendant 1 heure constitue l'abondance relative. La densité relative est le nombre de mollusques récoltés par personne pendant 15 minutes.

Principaux résultats

Ecologie des points d'eau

La zone d'étude de Niakhar a un climat soudano-sahélien avec une saison sèche de Novembre à Mai et une saison pluvieuse de Juin à Octobre. Les précipitations moyennes mensuelles sont faibles et ne varient pas beaucoup d'une année à une autre (606,7 mm, 570,4 mm et 695,2 mm en 2011, 2012 et 2013 respectivement).

Les sites de transmission de la schistosomiase urinaire dans la zone d'étude de Niakhar gardent de l'eau pendant 5 à 6 mois de Juillet à Novembre voire Décembre pour ceux situés au niveau des grandes mares et au niveau du marigot. A partir de Décembre et jusqu'au mois de Juin, soit une période de 6 à 7 mois, ils sont tous à sec. Les mares situées au Nord et au Nord-est se mettent très tôt en eau contrairement aux points d'eau situés au Sud et au Sud-ouest qui mettent en eau un peu plus tard. Il n'y a pas une grande différence dans la durée de la présence de l'eau au niveau des mares et du marigot.

Les mollusques rencontrés à Niakhar : *B. umblicatus* et *B. senegalensis*

Caractérisation morphologique

Deux espèces de mollusques du genre *Bulinus* ont été rencontrées dans les points d'eau prospectés de Niakhar. Sur la base des caractères morphologiques de la coquille, ces mollusques sont identifiés comme étant *B. umblicatus* (figure 17A) et *B. senegalensis* (figure 17B). En effet, la coquille est globuleuse avec un ombilic chez *B. umblicatus*. Chez *B. senegalensis*, par contre, elle est allongée sans ombilic et les tours de spires ne sont pas épaulés.



A



B

Figure 17: Images de *B. umblicatus* (A) et *B. senegalensis* (B) collectés dans le marigot "Bill Bill", Gajak (Niakhar 2013)

Caractérisation moléculaire

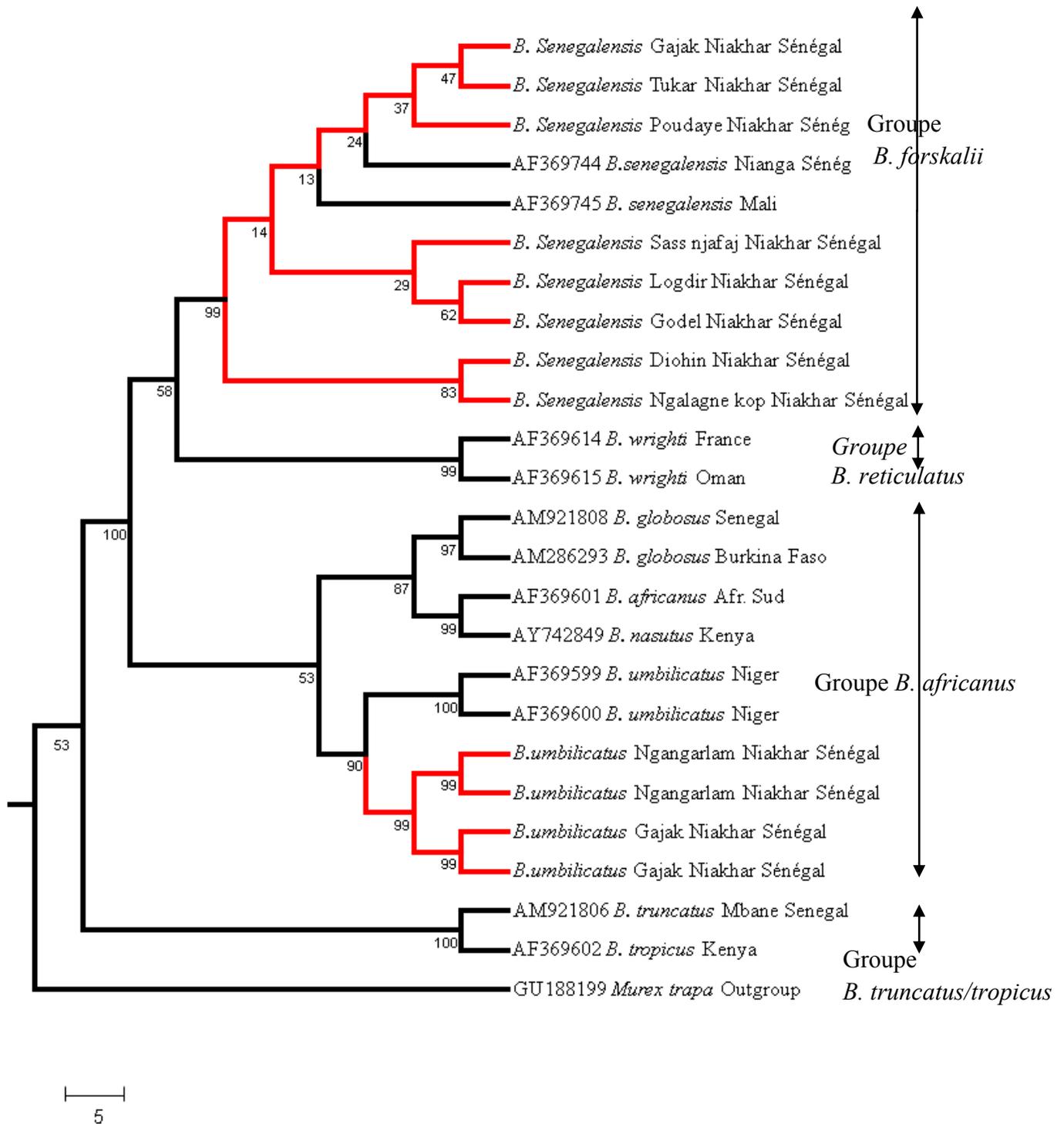


Figure 18: Arbre phylogénétique de *B. umbilicatus* et de *B. senegalensis* originaires de Niakhar (2012)

La comparaison des séquences obtenues avec celles déposées dans genbank nous a permis de réaliser la figure 18 et de confirmer la systématique des deux bulins basée sur la morphologie de la coquille.

B. senegalensis appartient au groupe *B. forskalii* avec lequel il forme un cluster de même qu'avec d'autres *B. senegalensis* originaires de différentes localités du Sénégal et d'Afrique.

B. umbilicatus quand à lui appartient au groupe *B. africanus* et forme aussi un cluster avec les *B. umbilicatus* originaires du Niger.

Dynamique des populations de mollusques : distribution, abondance et densité relative

Durant tout le suivi, un total de 14 250 bulins dont 13 730 (96,3%) *B. senegalensis* et 520 (3,7%) *B. umbilicatus* étaient collectés.

B. senegalensis est l'espèce la plus abondante et la plus répandue car elle a été rencontrée dans toutes les mares prospectées et les sites du marigot à Gajak.

B. umbilicatus a une distribution très localisée car régulièrement retrouvé dans une seule mare à Ngangarlam et aussi dans le marigot à Gajak.

Aucun mollusque n'a été collecté au niveau des sites du marigot du village de Kocokh. Il en est de même pour ceux du village de Godel mais les habitants de ce village fréquentent aussi une mare où *B. senegalensis* a été rencontrée.

Dans les mares de 8 villages où *B. senegalensis* est rencontre seul, les périodes de pics de ce bulin se situent entre Septembre et Octobre.

Dans la mare du village de Ngangarlam où *B. senegalensis* coexiste avec *B. umbilicatus*, les périodes des pics de population de mollusques varient d'une année à l'autre et d'une espèce à l'autre. En 2011, le pic de *B. senegalensis* était atteint en Octobre et celui de *B. umbilicatus* en Septembre-October, mais il n'y a pas eu de collecte en Juillet et Août. En 2012, les deux espèces étaient plus abondantes en Juillet. Mais *B. umbilicatus* n'a pas été retrouvé entre Août et Novembre. En 2013, le pic de *B. senegalensis* se situe en Septembre-October, alors que celui de *B. umbilicatus* est en Novembre.

Dans le marigot où ces deux bulins cohabitent également, des variations de périodes des pics de la population ont aussi été notées. En 2011, 2012 et 2013, les pics de *B. senegalensis* se situent toujours entre Septembre-October, alors que pour *B. umbilicatus*, les pics sont toujours atteints en Octobre en 2011 et 2012. Cependant, en 2013, seulement 2 *B. umbilicatus* ont été collectés en Septembre.

Dans l'ensemble, au niveau des mares les mollusques étaient plus abondants dans celles situées au Nord-est de la zone dans les villages de Poudaye, Tukar, Ngalagne kop, Sass Njafaj et

Ngangarlam. Les plus faibles densités de mollusques ont été retrouvées dans les mares des villages de Sob, Logdir, Diohin et Godel situés au Sud et au Sud-ouest. Une densité importante de mollusques a aussi été notée dans le marigot au niveau du village de Gajak à l'Ouest de la zone. Pendant chaque année, le maximum de mollusques était collecté vers la fin des pluies en Septembre-Octobre.

Structure de la population des mollusques

L'analyse de la structure de la population de mollusques a montré qu'elle se compose de spécimens de taille supérieure à 5 mm (adultes) au mois de Juillet. Entre le mois d'Août et Novembre, la population se compose des mollusques de toutes les tailles (jeunes et adultes). A partir de Novembre et jusqu'en Décembre, quand le niveau de l'eau commence à baisser, les mollusques de grandes tailles deviennent rares dans les points d'eau.

Dynamique de l'infestation des mollusques

Sur les 9 351 mollusques testés, seulement 35 (0,37%) avaient émis des cercaires de *S. haematobium*. En 2011 aucun bulin testé n'a émis des cercaires. C'est pendant les deux autres années que nous avons rencontré des bulins infestés dans certains points d'eau.

Dans la mare du village de Ngangarlam où les deux bulins coexistent, seul *B. umblicatus* était trouvé infesté en 2012 et 2013 entre Juillet et Novembre avec des taux d'infestation de 13,8% et 4,9% respectivement ($p < 0,05$).

Dans les mares des 8 villages où seul *B. senegalensis* existe, c'est en 2013, quand nous avons rapproché les collectes et augmenté le temps de prélèvement qu'on a eu plus de mollusques et *B. senegalensis* était trouvé infecté dans celles situées au niveau de 4 villages. Les taux d'infestation étaient de 0,63% et 0,68% en Septembre et en Octobre dans le village de Sass Njafaj (site2). Dans les villages de Tukar (site 8), Poudaye (site 12) et Logdir (Site 15), les taux d'infection étaient de 0,19% en Novembre, 0,73% et 4,16% en Septembre, respectivement.

Au niveau du marigot dans le village de Gajak, *B. senegalensis* était le seul bulin trouvé infesté en Septembre 2013 avec un taux de 1,40%.

Ecologie des bulins : résistance à la sécheresse

L'étude de l'écologie des bulins a montré que quelques jours après les premières pluies en Juillet, les mollusques récoltés dans les points d'eau étaient tous des adultes de grande taille. Aussi bien pour *B. umbilicatus* et *B. senegalensis*, ce sont ceux de taille comprise entre 7 et 9 mm qui sont plus nombreux (63,6% et 57,1%, respectivement). Ces mollusques ont donc traversé une période d'assèchement de 6 à 7 mois. Ils étaient plus abondant en 2013 qu'en 2012. L'étude de leur infestation a montré que seul *B. umbilicatus* était capable de garder son infestation durant la période de résistance à la sécheresse. En effet, 13,8% et 11,1% de taux d'infestation ont été trouvés chez ce bulin en Juillet 2012 et 2013 dans la mare de Ngangarlam respectivement. Ces mollusques étaient collectés 21 et 25 jours après les premières pluies de l'hivernage 2012 et 2013 respectivement.

Conclusion

Le suivi de la dynamique des points d'eau et des mollusques hôtes intermédiaires ont permis une meilleure compréhension du fonctionnement de ces foyers à mares et marigots temporaires. La pluviométrie et l'assèchement régulier sont des facteurs qui conditionnent la dynamique de ces points d'eau et les fluctuations des densités des mollusques.

B. senegalensis et *B. umbilicatus* sont les seules mollusques rencontrés. Cette étude a permis de rapporter pour la première fois, la présence de *B. umbilicatus* dans la zone écologique du Sine-Saloum. Les deux espèces jouent un rôle dans la transmission de la Schistosomiase urinaire à Niakhar.

L'étude de l'écologie de ces bulins a renseigné pour la première fois dans ces foyers temporaires que *B. umbilicatus* est capable de garder son infestation pendant une période d'assèchement de 7 à 8 mois. Ce phénomène est d'une grande importance dans l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire dans la zone d'étude de Niakhar et dans d'autres foyers de transmission saisonnière au Sénégal car pouvant augmenter le risque de transmission.

Par conséquent, pour éliminer la transmission dans ces systèmes épidémiologiques, un contrôle de la population de mollusques par le traitement des points d'eau par des molluscicides est nécessaire. Dans le cas de la zone d'étude de Niakhar, un premier traitement pourrait être fait entre Novembre et Décembre quand les points d'eau ne sont plus populaires et les mollusques concentrés dans de petites flaques d'eaux résiduelles. Un deuxième traitement pourrait aussi être effectué en début Juillet juste après les premières pluies et avant le début de la ponte afin d'atteindre les mollusques qui viennent de sortir de la diapause.

Ce travail est en préparation pour soumission

Un échantillon des populations de mollusques a été étudié avec des marqueurs génétiques afin de confirmer l'identification basée sur les caractères morphologiques. Les gènes mitochondriaux ont été choisis. En effet, ces gènes sont d'excellents marqueurs moléculaires pour définir des groupes de populations (Le *et al.*, 2000). Ces marqueurs sont transmis par les femelles. Le marqueur utilisé est une protéine codant pour la sous-unité 1 du cytochrome c oxydase (Cox1).

Nos deux espèces de mollusques (*B. senegalensis* et *B. umbilicatus*) ont également été utilisées dans une étude en collaboration avec l'équipe de Limoges portant sur la phylogénie de sept espèces de bulins provenant de zones endémiques de trois pays : Cameroun, Egypte et Sénégal en relation avec le parasite *S. haematobium*.

Ce travail est publié dans la revue *BMC Evolutionary Biology* (Annexe 1).

Article 3

Study of the dynamics of schistosome intermediate host snails of *S. haematobium* in the Niakhar study area, region of Fatick, Senegal

Bruno Senghor^{1,2§}, Omar Talla Diaw³, Mouhamadane Seye³, Souleymane Doucoure¹, Rima Zein Eddine⁵, Félicité F Djuikwo-Teukeng⁵, Idrissa Talla⁴, Adiouma Diallo¹, Gilles Dreyfuss⁵, Cheikh T Bâ², Cheikh Sokhna¹

¹Institut de Recherche pour le Développement, UMR 198 (URMITE), Campus International de Hann, IRD, BP 1386, CP 18524 Dakar, Sénégal. Tel: +221338493621. Fax: +221338324307.

²Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Département de Biologie Animale, BP 5005, Dakar, Senegal. Tel: +221338250530.

³Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, ISRA, route des Hydrocarbures, Bel Air, Dakar, Senegal.

⁴Programme national de lutte contre les bilharzioses et les géo-helminthiases, ministère de la santé et de l'action sociale, Dakar, Sénégal.

⁵INSERM UMR 1094, Faculties of Medicine and Pharmacy, Limoges, France

[§]Corresponding author: Bruno Senghor E-mail address: bruno.senghor@ird.fr

Abstract

Background

S. haematobium is the most widespread schistosome species in Senegal and occurs in several regions of the country especially in the Sudan-Sahelian zone where water bodies are temporal: ponds and backwaters. Based on observation of high prevalence of urinary schistosomiasis in school age-children, a malacological survey incorporating 26 sites within 11 villages was conducted in the Niakhar study area during the period of water from 2011 to 2013. The objectives of the present study were to investigate the dynamic of the snail intermediate hosts, their role in the transmission of *S. haematobium* and to study their ecology in order to suggest optimal time of snail control operation adapted to this area.

Method

Surveyed sites were mapped using a geographical information system. At each prospection, snail species were grouped by site and village, counted and identified based on shell morphology. Cercarial shedding was tested from snails and the species height measured in order to determine population structure and those who were resisted to drought.

Results

In Niakhar study area several ponds and a backwater that form from July to November-December are the only water bodies where urinary transmission occurs. *B. senegalensis* and *B. umblicatus* are the only snails species found in the area. *B. senegalensis* is the most widespread and abundant species, while *B. umblicatus* reported for the first in the ecological zone of Sine-Saloum has focal distribution. The highest snail abundances were recorded in September and October. The rate of shedding schistosome cercariae were 0.18% in 2013 in *B. senegalensis* and 6.1% and 4.9% in 2012 and 2013 respectively in *B. umblicatus*. The ecological study of these snails showed that both *Bulinus spp.* especially the adults whose size is between 7 and 9 mm are better able to resist drought

during 6 to 7 months. This study also show that *B. umblicatus* is able to keep its infestation during this aestivating period.

Conclusion

The seasonal transmission of *S. haematobium* is active in the Niakhar study area despite repeated Praziquantel treatment. Therefore, a snail control to complement chemotherapy in the reduction of the transmission in this area is necessary and the best time for this is between November and December.

Keywords: *B. senegalensis*, *B. umblicatus*, malacology, ponds, schistosomiasis, snails, Niakhar, Senegal

Introduction

Schistosomiasis is an environmentally transmitted parasitic disease that results in increased morbidity and mortality in tropical and subtropical regions (Chitsulo *et al.*, 2000, Hotez *et al.*, 2006a). In sub-Saharan Africa, 112 million people are infected with *Schistosoma haematobium* (Koukounari *et al.*, 2007). Freshwater gastropods of the genus *Bulinus* are intermediate snail hosts of *S. haematobium*, (Brown, 1994) People are infected during their routine agricultural, domestic, occupational and recreational in water collection where they are exposed to the snails carrying the parasites. Therefore, the temporary ponds and backwaters which represent important water collections in endemic countries play a key role in the epidemiology and the transmission of *S. haematobium* (Le Bras *et al.*, 1982). Malacological studies on these temporary rain-ecosystems in West Africa (Smithers, 1956, Goll & Wilkins, 1984, Betterton *et al.*, 1988b, Diaw *et al.*, 1989) and in central Africa (Greer *et al.*, 1990) showed the importance of these ecosystems which represent the habitats of *B. senegalensis* and *B. umbilicatus*.

In Senegal, *S. haematobium* is endemic and occurs in all regions except the region of Dakar (Ndir, 2000) and *B. senegalensis*, *B. globosus*, *B. truncatus* and *Bulinus umbilicatus* are the only ones *Bulinus* involved in the parasite transmission (Diaw, 1986, Sène *et al.*, 2004). The role of each *Bulinus* species in the transmission of *S. haematobium* in Senegal varies between the different ecological areas. In the North of the country, in the Senegal River Valley where the presence of fresh water is permanent all the four *Bulinus* species are encountered and *B. globosus* is the main intermediate host (Diaw, 1997). In the Senegalese Sudan-Sahelian ecological area, the transmissions sites are temporary and depend on the rainfall. In this ecological area, in the department of Tambacounda, the presence of all species of *Bulinus* were reported but *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* are the most common species and can survive 6 to 8 months when water sources are dry. However, only *B. umbilicatus* was found infested with *S. haematobium* (Diaw, 1984a, Diaw *et al.*, 1989). In addition, the presence of *B. senegalensis* and *B. forskalii* has been reported in the regions of Kaolack and Fatick which are part of this Sudan-Sahelian ecological area. However, the role these two species in the transmission of *S. haematobium* at Kaolack and Fatick remains unclear as until now all specimen collected are not harboring the parasite (Diaw & Diouf, 1979, Diaw *et al.*, 1992b).

The Niakhar demographic site survey is located in the region of Fatick and recent studies revealed that the prevalence of *S. haematobium* is high particularly in school aged-children. (Senghor *et al.*, 2014a). Two type of water collections are found at Niakhar: a backwater and ponds network. These water collections are temporally and rain fed. However, no malacological survey was carried out to determine the *Bulinus* species involved in the disease transmission as well as their repartition and abundance through the Niakhar area.

This paper reports the findings of monthly surveys in the two seasonal water bodies' types of Niakhar: a backwater and several ponds, from September 2011 to December 2013. The objectives were i) to study the snail dynamic and their ecology and to determine their epidemiological role in the transmission of *S. haematobium*.

Materials and Methods

Study area

The study was carried out at Niakhar (14°30' N, 16°30' W), a rural area located in the region of Fatick, 135 km east of Dakar, the capital of Senegal, West Africa. The study zone (Fig. 1) was approximately 15 km long and 15 km wide and covered 230 km² (Levi & Adyamagbo, 2003). The

area includes 30 villages with a population of 43 000 people in 2012 (Delaunay *et al.*, 2013). Niakhar is situated in a Sahelian-Sudanese climatic zone with temperatures ranging from 24°C in December-January to 30°C in May-June (Ndiaye *et al.*, 2001). This region is characterized by a climate marked by two distinct seasons: a dry season that lasts 7-8 months, and a rainy season for a period of 4 to 5 months (July-October). The average annual rainfall decreased from 800 mm in the 1950s to 500 mm in the 1980s. Increasing of precipitations has been observed since the mid-2000s, with an average annual rainfall of 600 mm between 2005 and 2010. From 2010 to 2013, the average rainfall was 611, 4 mm. A map of all water sources (backwater, ponds, wells and supply taps) established in 2003 showed that 40% of the population had no access to tap water in 2003 (Delaunay *et al.*, 2013). During the rainy season, the Niakhar area is separated in two parts by the backwater that is used for bathing, swimming, laundry, fetching water, and fishing. In the ponds, these activities are done except fishing. The area is a single seasonal transmission focus of urinary schistosomiasis *S. haematobium*. The infections occur only in the ponds and the backwater during the rainy season.

Selection of snails sampling sites

A preliminary survey along the villages was conducted to identify the different water collection used for domestic and recreational activities. Geographical positions of the sites surveyed were determined using a global positioning system (GPS). Each pond corresponds to one site of water contact while in the backwater there are several sites. A total of 26 sites of water contact were selected including 17 ponds and 9 in the backwater. These sites of water contact are distributed in 11 villages and were selected taking into account the frequentation and the proximity to the concessions. Among these villages, 2 (Gajak and Kocokh) use only the backwater, one (Godel) use the backwater and one pond and 8 (Diohin, Logdir, Ngalagne kop, Ngangarlam, Puday, Sob and Sass njafaj) use only ponds (Figure 1 and Table 1).

The prospection for snails sampling were done from July to December when all ponds and the backwater are in water. Three snails sampling were done during the 2011, 2012 and 2013 transmission seasons. The snails sampling was done during 15 minutes at monthly interval from September 2011 to December 2011 and from July to December 2012. From July to December 2013, snails were collected at 15-days interval during 30 minutes during each sampling; snails were collected at each site by one person. They are picked up by a clamp to avoid any risk of contamination. Snails were kept in separate plastic containers with some water and vegetation of the site. The total number of snails collected for 1 hour represents the relative abundance. The relative density is the number of snails collected per person for 15 minutes (Diaw *et al.*, 1999a). The rainfalls in the study area were recorded during these three years of snails sampling.

Snail identification and infection rate

After each collect, the snails were sent to the Niakhar laboratory for identification with an identification key of fresh water snails (Diaw *et al.*, 1999a). They were counted and their high were measured under a dissecting microscope using a millimeter paper. After that, each snail is placed individually in glass tubes with 10 ml of filtered water and exposed to direct sunlight or to electric light for 30 to 40 minutes to induce cercarial shedding. The cercariae were then checked under a dissecting microscope. This microscopic examination allowed to identify only schistosome cercariae (Frandsen & Christensen, 1984, Diaw *et al.*, 1999a, Devkota *et al.*, 2011). At each year, the overall infestation rate was evaluated for all snails. The change in infestation rates of the snails between years were compared using OpenEpi, version 3. <http://www.openepi.com/TwoByTwo.htm>.

Measurement of the size of the snails

The population age structure of the snails was determined at each collect by measuring their sizes under a light microscope on a graph paper. The snails were classified in five groups according to their size: group 1 (size < 3 mm), group 2 (3 - 4.9 mm), group 3 (5 - 6.9 mm), group 4 (7 - 9.9 mm) and group 5 (10 - 15 mm). Groups 1 and 2 represented the young snails. Adults snails were represented by the groups 3, 4 and 5 (Diaw *et al.*, 1989). Snails collected after the first rains in July are considered as resistant to the dry season.

Results

Monthly rainfall

From 2011 to 2013, the rainy season lasted from June to October and the dry season from November to May. The average annual rainfall was low and did not varied too much from one year to another (606.7 mm, 570.4 mm and 695.2 mm in 2011, 2012 and 2013 respectively). During this period of three years, the rainfalls were more abundant between August and September and the maximum rainfalls were recorded in August (Table 2).

Snail specie identification, distribution and abundance

Only two snail species: *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* were encountered in the water points surveyed from 2011 to 2013. All of the 17 sites in the pond habitats yielded snails, while in the backwater among the 9 sites, snails were found in 4 sites. A total of 14 250 freshwater snail specimen were collected from 2011 to 2013. On the basis of shell morphology, 13730 (96.3%) of the snails collected were identified as *Bulinus senegalensis* (Muller, 1781) 1781) and 520 (3.7%) as *Bulinus umbilicatus* (Mandahl-Barth, 1973). Overall, the total number of snails collected was higher in 2013 than in 2012 and 2011. A number of 12 303, 1 370 and 693 snails were collected at 2013, 2012 and 2011, respectively. The highest snail abundances were recorded in the village of Tukar and Gajak with 1 088 specimen in both villages. In 2013, this trend has changed and the village of Poudaye had the highest number of snails with 5928.

The distribution of the two species is different. *B. senegalensis* was always encountered in all the 21 sampled sites located in the ponds of 10 villages, while *B. umbilicatus* was occurred along the backwater sampling sites in the village of Gajak and only in one pond located in the village of Ngangarlam. No snails were collected in the sites of the backwater located in the villages of Godel and Kocokh (Site 21, 22, 24, 25 and 26). (Table 3, Figure 1).

In general, in the villages with only ponds and where only *B. senegalensis* was found, the maximum of snails were recorded between September and October with slight change of peaks from one village to another.

In the village of Ngangarlam and Gajak where the two species coexists at a pond and in the backwater, respectively, the abundance of snails species varies from one village to another and within village from one year to another (Table3 and 4).

In the backwater at Gajak, *B. senegalensis* was the most abundant species from 2011 to 2013. But, in 2013, the population of *B. umbilicatus* has completely diminished in all the four sites of the backwater. Both species had their peaks at October 2011, while in 2012 the peaks have shifted in September and November for *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* respectively. In 2013, only *B. senegalensis* was collected with a maximum of specimen in September.

At the pond of Ngangarlam *B. senegalensis* was the most abundant species from 2011 to 2012 but not in 2013 where *B. umbilicatus* was dominant. In 2011, the peak of the two species was reached in October. But in 2011 there was no collect in July and August. In 2012, both species had their peaks at

July. In 2013, it was attended in October for *B. senegalensis* and in November for *B. umbilicatus*. However, the density of *B. umbilicatus* was also important in July (Table 3 and Table 4).

Infestation of snails

The level of snail infestations was very low. Overall, regardless the species, the infestation rates were 0%, 0.64% (8) and 0.36% (27) in 2011, 2012 and 2013 respectively ($P > 0.05$).

The infection rate on *B. umbilicatus* were 8 (13.8%) in 2012 and 4.9% (14) in 2013 ($p < 0.05$). During the 2012 transmission seasons, only uninfected *Bulinus senegalensis* were collected in the study area. Infested *B. senegalensis* were found in 2013 with a rate 0.18% (13) significantly lower than that of *B. umbilicatus* 4.9% (14), respectively) ($P < 0.05$).

At the pond of the village of Ngangarlam where the two species cohabit, only *B. umbilicatus* was infested. The rate of infestation was 13.8% (8) in July 2012 and in 2013, the rate were 11.1% (12), 20% (1) and 0.6% (1) in July, October and November respectively.

At the 8 villages with only ponds and where only *B. senegalensis* was present, this snail was infested in four villages. At the village of Sass njafaj (site 2) infestation rates were 0.63% (3) and 0.68% (2) in September and October respectively. At Tukar (site 8), Poudaye (site 12) and Logdir (Site 15) the rates of infested *B. senegalensis* were 0.19% (1) in November, 0.73% (1) and (4.16%) (1) in September, respectively.

At the village of Gajak where the two snails were encountered, only *B. senegalensis* was infested with a rate of 1.4% (5) (Table 4).

Overall, the rate of infested *B. senegalensis* was higher in the backwater sites 0.47% (5) than in the pond sites 0.10% (8), but there was no significant difference ($P > 0.05$) (Table 3).

Structure of snail's population and resistance to drought

The figure 2 shows the general structure of snail population from 2011 to 2013 in all water points for *B. senegalensis*; the most abundant and widespread snail. It shows that the maximum of snails was recorded after the rainfall peak in September, October and November. The analysis of the structure of the snail population shows that at the month of July, it consists of specimens whose size was over than 5 mm (adults). Between August and November, the population consists of snails of all sizes: young (> 3 and > 4.9 mm) and adults (5 to 15 mm). From November until December, when the water level begins to drop, adult snails become scarce in water points.

The snail population studied in July after the first rains showed that it consists mainly of large specimens, adults. For both species, individuals whose size was between 7 and 9.9 mm are the largest groups, 63.6% and 57.1% for *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* respectively (Figure 2 and Table 5). All snails of July 2012 and 2013 were tested and only *B. umbilicatus* was found infested by Schistosome in the pond of Ngangarlam. The infestation rates were 13.8% (8) in 2012 and 11.1% (12) in 2013. These snails were collected, 21 and 25 days after the first rains (Table 4).

Discussion

B. umbilicatus and *B. senegalensis* were the only snails species encountered in the ponds and the backwater of the Niakhar study area. Previous malacological surveys reported the presence of: *B. senegalensis*, *B. forskalii*, *B. globosus* and *B. truncatus* in the Sine-Saloum area including the Niakhar zone (Diaw *et al.*, 1992b). For the first time, this study reveals the presence of *B. umbilicatus*. This study shows a larger abundance and distribution of *B. senegalensis*. The same observation was reported in previous studies in the Sudan-Sahelian area of Senegal (Diaw *et al.*, 1992b, Diaw *et al.*, 1992a) but also in the Gambia (Goll & Wilkins, 1984). The distribution of *B. umbilicatus* was very limited. This could explain the fact that it has not been found by previous

studies. Low diversity of malacological fauna was noted in the Niakhar study area. But the presence of others *Bulinus* species was reported in others localities of the area of Sine-Saloum (Diaw *et al.*, 1992b) and in the region of Tambacounda with similar ecology (Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992a). In others localities, in the department of Tambacounda with similar ecology, *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* were also the only snails found in three ponds (Diaw *et al.*, 1989). In these temporary water points of the Sudan-Sahelian area, a region of dry savanna, ecological conditions are hostile to the development of many species of snails. The duration of the rainy season and the quantities of water, are important elements which govern the abundance and density *B. umbilicatus* and *B. senegalensis*. These snails adapt to their environment by establishing a short cycle allowing them to have high population density and to play their role as intermediate hosts of *S. haematobium* (Diaw *et al.*, 1992b). In 2011, low quantity of rains was recorded in June. In addition, three collects were done from September to October, which could explain the low densities of snails in 2011. In 2012 and 2013, the first rainfalls were early and higher than in 2011 in June with a greatest annual quantity of water in 2013. Thus the water in 2013 remained until the end of December in the largest ponds at Sass njafaj, Puday and Diohin. This duration of the water in the ponds has allowed the snails to have more breeding cycles before drying up of water collections. This could explain the differences of relative annual abundance observed between the years 2012 and 2013 and within these villages. In others villages with ponds, the cycle of the water is most short because they are all dry in November. That could explain the fact that the abundance was similar from one year to another. In the backwater, the difference observed in the population abundance between *B. umbilicatus* and *B. senegalensis* in 2013 and the two previous years could be due to the ecology of backwater whose water is salty at the end of rains. Thus, in these temporary water points, abundances and densities fluctuation of snails depend on rainfall and duration of water, but also on others ecological factors. Further studies should be conducted to assess the influence of some physical and chemical factors of water, such as vegetation cover, salinity, temperature, pH, conductivity, turbidity, etc. on the abundance and density of snails in the area. In 2011 all the snails collected in the study area were uninfected despite high prevalence of the disease at Niakhar. These results are similar to other studies conducted in endemic areas in Uganda and in Tanzania where all *Bulinus* snails collected from high transmission localities were negative (Standley *et al.*, 2010, Teckla *et al.*, 2014). In Senegal, very few or no *Bulinus* snails shedding cercariae were often reported by previous studies conducted in areas of the Sudan-Sahelian zone (Diaw, 1986, Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992b). The absence of infected *Bulinus* in 2011 in the current study may be explained by the low densities of snail collected due to the short cycle of the survey. Others factors, such as the fluctuations of snail population abundance, infectivity rates, cercarial productivity could explain this results (Walker, 2011, Kariuki *et al.*, 2013). In 2012 and 2013, even if snail densities and abundances were high, it was not very surprising that very few snails had shed cercariae. Indeed, annual mass Praziquantel administration for the control of urinary schistosomiasis implemented in the area in April 2012 and 2013 have reduced the level of *S. haematobium* transmission by eliminating a large number of parasites within the definitive host, especially children age-school. Therefore, the quantities of viable eggs released into the water were significantly reduced, resulting in a low infection of snails by miracidia. The existence of the transmission of schistosomiasis is certified by identifying snail shedding cercariae, that which is not always evident in areas with seasonal transmission. Therefore, the findings of this study suggest that in these areas the use of molecular techniques for the detection of prepatent and patent infections may be useful for a better assessment of the transmission of urinary schistosomiasis,

especially after mass Praziquantel treatments. This study has shown that transmission of *S. haematobium* occurs at Niakhar both in the ponds system and in the backwater sites localized in the village of Gajak. The role of this type of water bodies on the transmission of *S. haematobium* was reported in similar previous studies in West Africa (Goll *et al.*, 1984, Betterton *et al.*, 1988a, Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992b) and also in Central Africa in Cameroon (Greer *et al.*, 1990). *B. senegalensis* is only involved in the transmission of *S. haematobium* in Senegal. It was found infested in the middle valley around Podor and Matam (Vercruysse *et al.*, 1994, Picquet *et al.*, 1996), at Mbodiene (Diaw, 1997) and also in the region of Kaolack (Sibassor) (Diaw *et al.*, 1992b). In the Gambia, it was the only snail involved in the transmission of *S. haematobium* in pond system (Goll *et al.*, 1984). In the current study, *B. senegalensis* was found to be infested with schistosome cercariae. According to these results, the fact that *B. senegalensis* is compatible with *S. haematobium* and not by animal schistosome in Senegal, it is clear that this snail plays a role in the transmission of *S. haematobium* in the Niakhar study area. *B. umbilicatus* is a natural and potential intermediate host of *S. haematobium* and *S. curassoni* (Diaw, 1986, Vercruysse, 1990). It was the only infected snail by *Schistosoma spp.* found in the pond system in the department of Tambacounda in Senegal (Diaw *et al.*, 1989). In Niakhar, it was found infected by *Schistosoma spp.* in one pond from July to November, with high rate but the species were not identified. However, considering the high dynamic of *S. haematobium* transmission (Data from parasitological surveys not shown) in human populations of this village attending particularly this pond, the significant reduction of the infection rates of this snail in 2013 after mass treatment with PZQ in April 2012 and the fact that animal schistosome (*S. curassoni* and *S. bovis*) are very low in this ecological zone of Sine-Saloum (Diaw *et al.*, 1992b), while *S. haematobium* prevalence's are high (Senghor *et al.*, 2014a), it is possible that *B. umbilicatus* were infected by *S. haematobium* cercariae. Although these results do not confirm the exact nature of cercariae, they are of great importance as they have shown that in the study area of Niakhar, *B. umbilicatus* and *B. senegalensis* are the intermediate host snails of *S. haematobium* what had not been shown in previous studies. The findings of this study report that outside the village of Ngangarlam where human infections occurs from July to November, in all other villages, it takes place between September and November, period of great waters and transmission sites are very popular. Thus, in these temporary water points, transmission is seasonal and depends on several factors such as rainfall, density of snails, frequency of contacts with the infested water etc.). The Ponds and the backwater of the Niakhar study area are dry from November-December up to July. All snails collected in July after the impoundment of ponds have therefore gone through a drying period of 6 to 7 months. This phenomenon of drought resistance has been described by several authors and is well known among African snails especially *Bulinus sp.* (Smithers, 1956, Brown, 1994). The current study showed that *B. umbilicatus* and *B. senegalensis* can resist 7 to 8 months of drying up of ponds and that it is the large specimens, adults who are capable to resist. Similar observation was reported in the laboratory and the field by previous study in Senegal (Diaw *et al.*, 1988b, Diaw *et al.*, 1989). *B. umbilicatus* was found infected in 2012 and 2013, after a dry period of 7 months and this, 21 and 25 days after the first rains respectively. The same finding was reported in Tanganyika where some *B. nasutus* were found infected in ponds after five months of drying period and these, 21 days after impoundment (Webbe & Msangi, 1958). This phenomenon is of great importance in the epidemiology of urinary schistosomiasis in this area of seasonal transmission (Diaw *et al.*, 1989). The fact that *B. umbilicatus* was found infected with *S. haematobium* in Tambacounda (Diaw *et al.*, 1989)

and at Niakhar with high prevalence proves that he plays an important role in the transmission of urinary schistosomiasis in the areas of temporary ponds and backwaters in Senegal.

The findings of our study suggest for snails control in the case of Niakhar, treatment of water points between November and December before the remaining snails burrow into the mud would be cheaper and more efficient. It would have the advantage of being focused at the small puddles and target almost all *Bulinus* snails. In addition, during this period, ponds and backwater are not popular.

Conclusion

B. senegalensis and *B. umblicatus* are the only snails found in the Niakhar study area and both species play a role in the transmission of *S. haematobium*. *B. senegalensis* is the most widespread and abundant species, while *B. umblicatus* reported for the first in the ecological zone of Sine-Saloum has focal distribution. The drying up of ponds and the backwater is the main factor that causes fluctuations in the density of gastropods. The ecological study of the water points shows that they are completely dry for 6 to 7 months from November to June. This study also show that *B. umblicatus* is able to keep its infestation during this dry period. That explained the difference on transmission pattern noted between villages. This phenomenon can increase the risk and the period of transmission in the Niakhar study area and others seasonal transmission foci in Senegal. Therefore, the findings suggest a snail control in this area and the best time is between November and December when water bodies are not popular and all remaining Bulinid snails are concentrated in small puddles.

References

- Betterton, C., Ndifon, G. T., Basse, S. E., Tan, R. M. Oyeyi, T., 1988a: Schistosomiasis in Kano State, Nigeria. I. Human infections near dam sites and the distribution and habitat preferences of potential snail intermediate hosts. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **82**, 561-570.
- Betterton, C., Ndifon, G. T., Tan, R. M., 1988b: Schistosomiasis in Kano State, Nigeria. II. Field studies on aestivation in *Bulinus rohlfsi* (Clessin) and *B. globosus* (Morelet) and their susceptibility to local strains of *Schistosoma haematobium* (Bilharz). *Annals of tropical medicine and parasitology*, **82**, 571-579.
- Brown, D. S., 1994: *Freshwater snails of Africa and their medical importance*. Taylor & Franch London.
- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A., Savioli, L., 2000: The global status of schistosomiasis and its control. *Acta tropica*, **77**, 41-51.
- Delaunay, V., Douillot, L., Diallo, A., Dione, D., Trape, J. F., Medianikov, O., Raoult, D. Sokhna, C., 2013: Profile: the Niakhar Health and Demographic Surveillance System. *International journal of epidemiology*, **42**, 1002-1011.
- Devkota, R., Budha, P. B. Gupta, R., 2011: Trematode cercariae infections in freshwater snails of Chitwan district, central Nepal. *Himalayan Journal of Science*, **7**, 10-13.
- Diaw, O. T., 1984: Epidémiologie des trématodoses du bétail et étude des mollusques hôtes intermédiaires dans le département de Tambacounda- Rapport de Synthèse. ISRA, Dakar.
- Diaw, O. T., 1986: Rôle épidémiologique des mollusques dans la transmission des trématodoses humaines et animales au Sénégal. ISRA, Dakar.
- Diaw, O. T., 1997: *Population dynamics of schistosome intermediate host snails in a village in the delta of the Senegal River basin, Harare, Zimbabwe*
- Diaw, O. T. Diouf, A., 1979: Etude des trématodoses humaines et animales et de leurs hôtes intermédiaires. Rapport sur une mission effectuée dans les départements de Kaolack, Niore du Rip, Foundiougne (région du Sine-Saloum). L.N.E.R/ ISRA/Service de Parasitologie, Dakar.
- Diaw, O. T., Ndir, O. Toupane, M. G., 1999: *Guide de surveillance malacologique et de lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires des bilharzioses*, p. 60. Ministère de la santé. Service national des grandes endémies.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1988: Resistance to drought of *Bulinus* molluscs, vectors of human and animal trematodosis in Senegal. I. Laboratory trials. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **41**, 289-291.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1989: Resistance to drought of mollusks of the genus *Bulinus*, vectors of human and animal trematode infections in Senegal. II. Study under natural conditions in the North-Sudan area. Ecology and resistance to drought of *Bulinus umbilicatus* and *B. senegalensis*. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **42**, 177-187.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1992a: Epidémiologie des trématodoses du bétail dans la région de Tambacounda (Senegal). LNERV, ISRA.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1992b: Epidémiologie des trématodoses du bétail dans le Sine-Saloum (régions de Kaolack et de Fatick au Sénégal). ISRA, Dakar.
- Frandsen, F. Christensen, N. O., 1984: An introductory guide to the identification of cercariae from African freshwater snails with special reference to cercariae of trematode species of medical and veterinary importance. *Acta tropica*, **41**, 181-202.
- Goll, P. H. Wilkins, H. A., 1984: Field studies on *Bulinus senegalensis* Muller and the transmission of *Schistosoma haematobium* infection in a Gambian community. *Tropenmedizin und Parasitologie*, **35**, 29-36.

- Goll, P. H., Wilkins, H. A. Marshall, T. F., 1984: Dynamics of schistosoma haematobium infection in a Gambian community. II. The effect on transmission of the control of *Bulinus senegalensis* by the use of niclosamide. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **78**, 222-226.
- Greer, G. J., Mimpfoundi, R., Malek, E. A., Joky, A., Ngonseu, E. Ratard, R. C., 1990: Human schistosomiasis in Cameroon. II. Distribution of the snail hosts. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **42**, 573-580.
- Hotez, P. J., Molyneux, D. H., Fenwick, A., Ottesen, E., Ehrlich Sachs, S. Sachs, J. D., 2006: Incorporating a rapid-impact package for neglected tropical diseases with programs for HIV/AIDS, tuberculosis, and malaria. *Plos Med*, **3**, e102.
- Kariuki, H. C., Madsen, H., Ouma, J. H., Butterworth, A. E., Dunne, D. W., Booth, M., Kimani, G., Mwachia, J. K., Muchiri, E. Vennervald, B. J., 2013: Long term study on the effect of mollusciciding with niclosamide in stream habitats on the transmission of schistosomiasis mansoni after community-based chemotherapy in Makueni District, Kenya. *Parasites & vectors*, **6**, 107.
- Koukounari, A., Gabrielli, A. F., Toure, S., Bosque, E. O., Zhang, Y., Sellin, B., Donnelly, C. A., Fenwick, A. Webster, J. P., 2007: Schistosoma haematobium Infection and Morbidity Before and After Large-Scale Administration of Praziquantel in Burkina Faso. *The Journal of Infectious Diseases*, **196**, 659-669.
- Le Bras, M., Faucher, P., Giap, G., Meric, D., Commenges, D., Villenave, D., Camara, S., Gatheron, C. Appriou, M., 1982: Human activities, hydro-agricultural management and urinary schistosomiasis. Methodological approach and results (a preliminary study in Upper-Volta). *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, **75**, 44-54.
- Levi, P. Adyamagbo, A., 2003: *Tableau de bord des principaux indicateurs sociodémographiques dans la zone de Niakhar (Sénégal)*. IRD, Dakar.
- Ndiaye, O., Hesran, J. Y., Etard, J. F., Diallo, A., Simondon, F., Ward, M. N. Robert, V., 2001: Climate variability and number of deaths attributable to malaria in the Niakhar area, Senegal, from 1984 to 1996. *Sante*, **11**, 25-33.
- Ndir, O., 2000: Situation des Schistosomoses au Sénégal. In: J. P. Chippaux (ed.), *La lutte contre les Schistosomoses en Afrique de l'Ouest*. IRD, Paris.
- Picquet, M., Ernould, J. C., Vercruysee, J., Southgate, V. R., Mbaye, A., Sambou, B., Niang, M. Rollinson, D., 1996: The epidemiology of human schistosomiasis in the Senegal river basin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **90**, 340-346.
- Sène, M., Southgate, V. R. Vercruysee, J., 2004: *Bulinus truncatus*, hôte intermédiaire de *Schistosoma haematobium* dans le bassin du fleuve Sénégal. *Bull Soc Pathol Exot*, **97**, 29-32.
- Senghor, B., Diallo, A., Sylla, S. N., Doucoure, S., Ndiath, M. O., Gaayeb, L., Djuikwo-Teukeng, F. F., Ba, C. T. Sokhna, C., 2014: Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar, region of Fatick, Senegal. *Parasit Vectors*, **7**, 5.
- Smithers, S. R., 1956: On the ecology of schistosome vectors in the Gambia, with evidence of their role in transmission. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **50**, 354-365.
- Standley, C. J., Adriko, M., Arinaitwe, M., Atuhaire, A., Kazibwe, F., Fenwick, A., Kabatereine, N. B. Stothard, J. R., 2010: Epidemiology and control of intestinal schistosomiasis on the Sesse Islands, Uganda: integrating malacology and parasitology to tailor local treatment recommendations. *Parasites & vectors*, **3**, 64.
- Teckla, A., Shahada, F., Kassuku, A., Mazigo, H., Kariuki, C., Anouk, G., Rollinson, D. Kinung'hi, S., 2014: Population abundance and disease transmission potential of snail intermediate hosts of human schistosomiasis in fishing Communities of Mwanza region, North western, Tanzania. *International Journal of Science and Research*, **3** 1230-1236.

- Vercruyse, J., 1990: Schistosoma species in Senegal with special reference to the biology, epidemiology and pathology of Schistosoma curassoni Brumpt, 1931. *Verhandelingen - Koninklijke Academie voor Geneeskunde van Belgie*, **52**, 31-68.
- Vercruyse, J., Southgate, V. R., Rollinson, D., De Clercq, D., Sacko, M., De Bont, J. Mungomba, L. M., 1994: Studies on transmission and schistosome interactions in Senegal, Mali and Zambia. *Tropical and geographical medicine*, **46**, 220-226.
- Walker, A. J., 2011: Insights into the functional biology of schistosomes. *Parasit Vectors*, **4**, 203-2011.
- Webbe, G. Msangi, A. S., 1958: Observations on three species of Bulinus on the east coast of Africa. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **52**, 302-314.

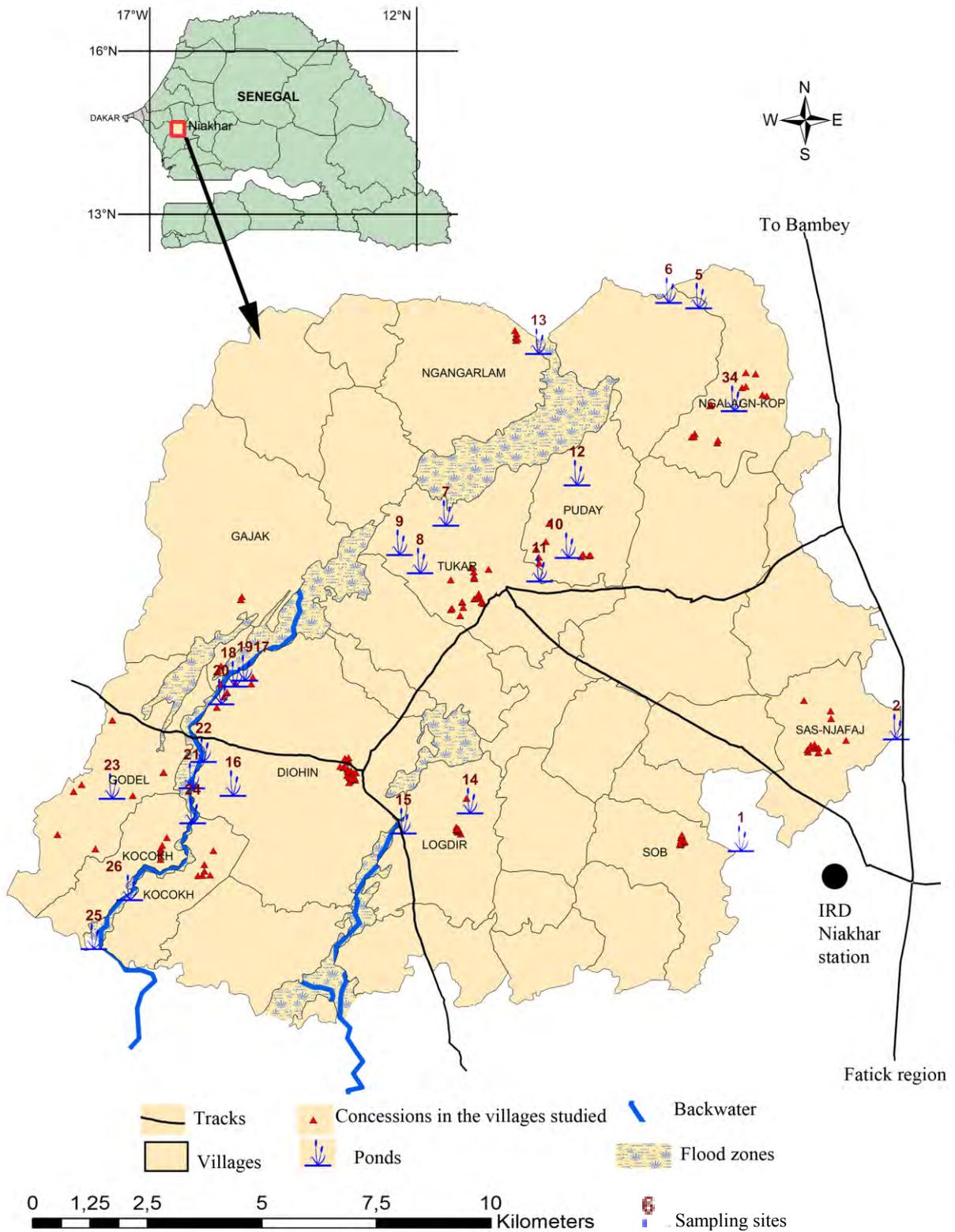


Figure 1: Map of the study area of Niakhar showing the location of snail sampling sites and the concessions in each village investigated in the Niakhar study area

Table 1: Distribution of snails sampling sites in the 11 village investigated in the Niakhar study area

Type water point	Villages	Number of site	Site Number	Total site/water point
Pond	Sob	1	1	17
	Sass Ndiafaj	1	2	
	Ngalagne Kop	4	3 - 4 - 5 -6	
	Tukar	3	7 - 8 - 9	
	Puday	3	10 - 11 -12	
	Ngangarlam	1	13	
	Logdir	2	14 - 15	
	Diohin	1	16	
	Godel	1	23	
Backwater	Gajak	4	17 - 18 - 19-20	9
	Godel	2	21 - 22	
	Kocokh	3	24 - 25 - 26	
Total		26		26

Table 2: Monthly average rainfall recorded in the study area of Niakhar from 2011 to 2013

Months	May	June	July	August	September	October	November	Total
Main monthly rainfull (mm)								
2011	0	4,5	112,7	282,4	175,4	31,75	0	606,75
2012	0	25	112,1	260,1	170	28,2	0	570,4
2013	0	19,17	144,3	316,17	175,3	40,3	0	695,2

Table 3: Total number of snails collected and infestation rates (%) on the 17 ponds and the 4 sites yielded snails in the backwater in 2011, 2012 and 2013 in 11 villages of the Niakhar study area

Village (No. Site)	Type water point	Snail species	2011				2012				2013				Subtotal all species			
			No. Collected	No. Tested	No. Infested	Infestation rate (%)	No. Collected	No. Tested	No. Infested	Infestation rate (%)	No. Collected	No. Tested	No. Infested	Infestation rate (%)	No. Collected	No. Tested	No. Infested	Infestation rate (%)
Sob (1)		<i>B. senegalensis</i>	16	16	0	0	44	44	0	0	512	330	0	0	572	390	0	0
Sass Ndiafaj (1)		<i>B. senegalensis</i>	25	25	0	0	20	20	0	0	898	819	5	0,61	943	864	5	0,58
Ngalagne kop (4)		<i>B. senegalensis</i>	131	127	0	0	156	156	0	0	882	714	0	0	1169	997	0	0
Tukar (3)		<i>B. senegalensis</i>	59	59	0	0	150	150	0	0	1512	1337	1	0.07	1721	1546	1	0,06
Poudaye (3)	Pond	<i>B. senegalensis</i>	34	34	0	0	122	111	0	0	5912	1920	1	0.05	6068	2065	1	0,05
Ngangarlam (1)		<i>B. senegalensis</i>	44	40	0	0	166	166	0	0	275	263	0	0	485	469	0	0
		<i>B. umbilicatus</i>	13	13	0	0	58	58	8	13.79	290	281	14	4.98	361	352	22	6.25
Logdir (2)		<i>B. senegalensis</i>	62	56	0	0	80	80	0	0	90	90	1	1.11	232	226	1	0,44
Diohin (1)		<i>B. senegalensis</i>	81	60	0	0	114	110	0	0	902	689	0	0	1097	859	0	0
Godel (1)		<i>B. senegalensis</i>	33	33	0	0	64	64	0	0	278	270	0	0	375	367	0	0
Total in ponds		<i>B. senegalensis</i>	485	450	0	0	1032	901	0	0	11261	6432	8	0,12	12662	7783	8	0.10
		<i>B. umbilicatus</i>	13	13	0	0	58	58	8	13.79	290	281	14	4.98	361	352	22	6.25
Gadjiak (4)	Backwater	<i>B. senegalensis</i>	110	101	0	0	208	208	0	0	750	748	5	0,67	1068	1057	5	0,47
		<i>B. umbilicatus</i>	85	85	0	0	72	72	0	0	2	2	0	0	157	159	0	0
Godel (2)		-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kocokh (3)		-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total in backwater		<i>B. senegalensis</i>	110	101	0	0	208	208	0	0	750	748	5	0,67	1068	1057	5	0,47
		<i>B. umbilicatus</i>	85	85	0	0	72	72	0	0	2	2	0	0	159	159	0	0
Subtotal in all villages		<i>B. senegalensis</i>	595	551	0	0	1240	1109	0	0	12011	7180	13	0,18	13730	8840	13	0,15
		<i>B. umbilicatus</i>	98	98	0	0	130	130	8	6.15	292	283	14	4.95	520	511	22	4.31
Global total all species			693	649	0	0	1370	1239	8	0.65	12303	7463	27	0.36	14250	9351	35	0.37

Table 4: Distribution, relative abundance and density and infestation rates of *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* in the ponds and the backwater in 10 villages of the study area Niakhar in 2011, 2012 and 2013

Villages	Sob			Sass			Ngalagne			Tukar			Poudaye			Ngangarlam						Logdir			Diohine			Gajak (Backwater)						Godel					
Snails	<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. u</i>			<i>B. s</i>			<i>B. s</i>			<i>B. u</i>			<i>B. s</i>								
Months	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR	RA	RD	IR
September 2011	8	2	0	64	16	0	336	84		112	28		12	3		72	18	0	24	6	0	56	14	0	64	16	0	192	48	0	0	0	0	0	0	0	128	32	0
October 2011	56	14	0	36	9	0	308	77	0	96	24	0	56	14	0	104	26	0	28	7	0	192	48	0	56	14	0	272	68	0	160	40	0	4	1	0			
November 2011	Drying up									16	4	0	Drying up									136	34	0	24	6	0	48	12	0	Drying up								
Annual RA	136			100			544			224			68			176			52			248			256			488			208			132					
December 2011 to May 2012. Dry season																																							
June 2012 first rains - Beginning of impoundment																																							
July 2012	0	0	0	0	0	0	12	3	0	220	55	0	60	15	0	272	68	0	232	58	8 (13.79)	20	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
August	0	0	0	0	0	0	Inondation			28	7	0	316	79	0	0	0	0	0	0	0	64	16	0	44	11	0	160	40	0	0	0	0	128	32	0			
September	132	33	0	720	180	0	308	77	0	460	115	0	284	71	0	72	18	0	0	0	0	56	14	0	96	24	0	332	83	0	0	0	0	72	18	0			
October	112	28	0	40	10	0	280	70	0	120	30	0	104	26	0	40	10	0	0	0	0	32	8	0	48	12	0	128	32	0	20	5	0	0	0	0			
November	Drying up									28	7	0	16	4	0	0	0	0	0	0	0	Drying up			52	13	0	56	14	0	280	70	0	4	1	0			
December	Dry									232	58	0	Dry			20	5	0	24	6	0	Dry			72	18	0	40	10	0	Drying up								
Annual RA	244			760			588			1088			780			404			256			172			240			748			340			204					
December 2012 to May 2013. Dry season																																							
June 2013 first rains - Beginning of impoundment																																							
July 2013	16	4	0	0	0	0	236	59	0	20	5	0	176	44	0	20	5	0	108	27	12 (11.1%)	0	0	0	12	3	0	72	18	0	0	0	0	52	13	0			
August	20	5	0	56	14	0	272	68	0	72	18	0	144	36	0	16	4	0	12	3	0	32	8	0	80	20	0	344	86	0	0	0	0	44	11	0			
September	104	26	0	464	116	3 (0.65%)	212	53	0	260	65	0	164	41	1 (0.73%)	112	28	0	0	0	0	28	7	1 (4.16%)	96	24	0	324	81	5 (1.40%)	4	1	0	Inondation					
October	112	28	0	320	80	2 (0.68%)	200	50	0	588	147	0	588	147	0	124	31	0	8	2	1(20%)	48	12	0	124	31	0	104	26	0	0	0	0	152	38	0			
November	68	17	0	52	13	0	Drying up			532	133	1 (0.22%)	3720	930	0	16	4	0	172	43	1 (0.62%)	Drying up			208	52	0	0	0	0	40	10	0						
December	32	8	0	Dry						80	20	0	1136	284	0	Dry						268	67	0	0	0	0	0	0	0	Dry								
Annual RA	352			892			920			1552			5928			288			296			108			788			844			4			288					

RA: Relative abundance - RD: Relative density - IR (%): Infestation rate - *B. s*: *B. senegalensis* - *B. u* = *B. umbilicatus*



Photo 1: A dry pond in the Niakhar study area from December 2012 to June 2013



Photo 2: A pond with water in the Niakhar area from July 2013 to November 2013

Table 5: Estimation of the age of *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* collected in July 2012 and 2013 by the height of the shell measured and grouped by size (mm)

Shell height (mm)		Group 1 (> 3)	Group 2 (3 - 4.9)	Group 3 (5 - 6.9)	Group 4 (7 - 9.9)	Group 5 (10 - 15)
Snails species	Total snails collected	No. Snails (%)	No. Snails (%)	No. Snails (%)	No. Snails (%)	No. Snails (%)
<i>B. senegalensis</i>	624	0 (0)	0 (0)	127 (20.3)	397 (63.6)	100 (16.1)
<i>B. umbilicatus</i>	163	0 (0)	0 (0)	56 (34.4)	93 (57.1)	14 (8.6)

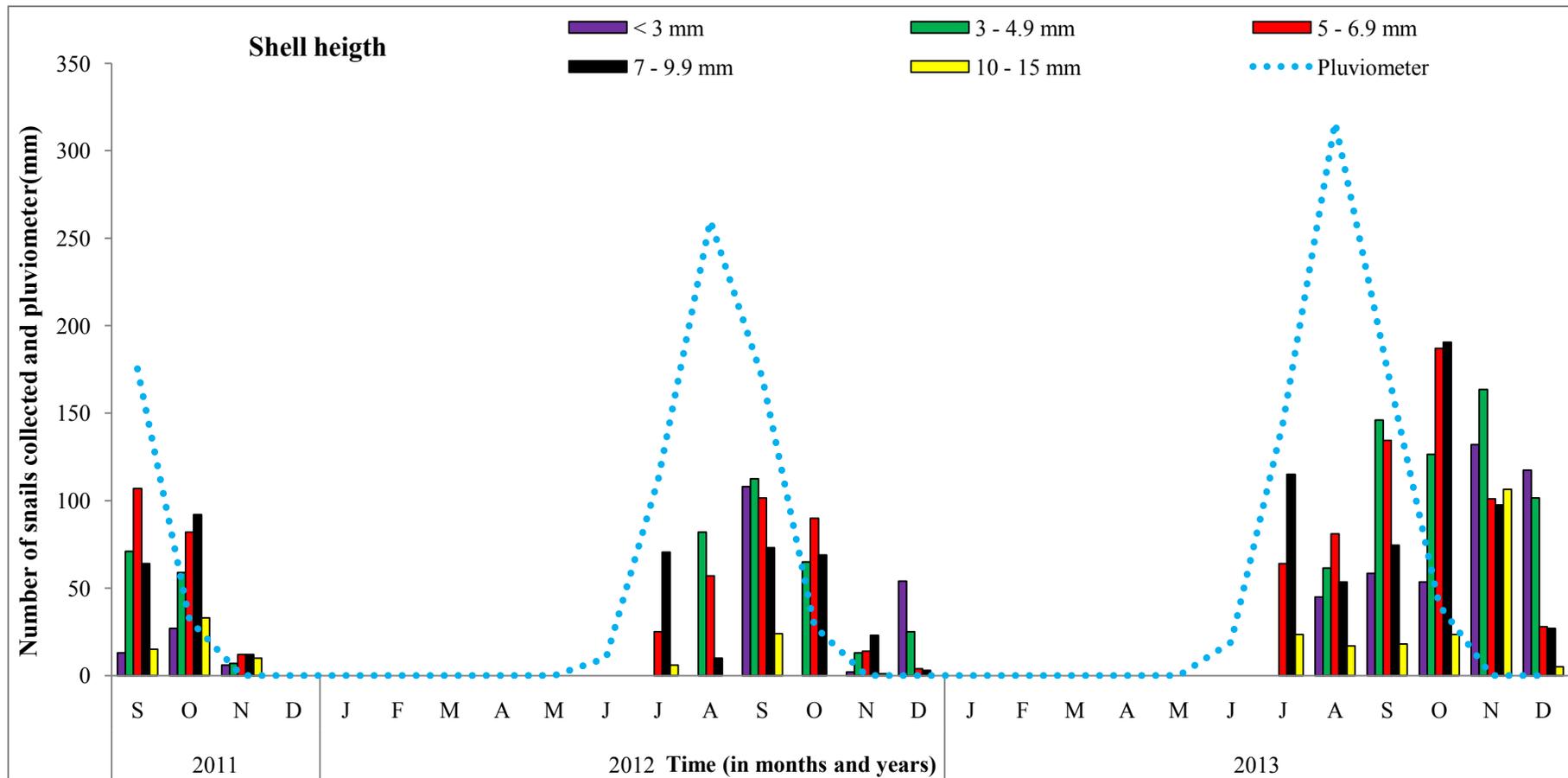


Figure 2: Seasonal fluctuations in the population structure of *B. senegalensis* in depending on rainfall in the temporary ponds of the study are

Etude 4 : Dynamique de la transmission de *S. haematobium* après un traitement annuel répété sur 3 ans dans un foyer simple de transmission saisonnière au centre du Sénégal

Nous avons montré dans nos études précédentes qu'avant les traitements répétés, les prévalences dans tous les villages étaient élevées chez les enfants en âge scolaire. Nous avons aussi par la suite démontré qu'un seul traitement par le praziquantel (40 mg/kg) à une grande efficacité sur *S. haematobium* en réduisant de façon drastique les prévalences et les intensités de l'infection dans tous les villages. Ces études ont mis en exergue l'existence de ré-infections et la présence de mollusques infectés dans certains points d'eau montrant ainsi que la transmission est toujours active mais à un niveau très bas. Les résultats de ces études précédentes ont également montré que les ré-infections observées après le traitement en 2011 dans certains villages sont essentiellement dues aux plus jeunes enfants, à la proximité des concessions avec les sites de transmission et à la grande abondance des mollusques dans les sites de transmissions. Dans l'ensemble, le suivi malacologique pendant les trois cycles de transmission (2011, 2012 et 2013) a montré des différences de dynamique des populations de mollusques et de leurs infestations d'un village à l'autre, de même que des variations annuelles. Il a aussi montré que la période de transmission dépend de la répartition spatiale des bulins et de leur écologie. Elle commence en Juillet au niveau du village de Ngangarlam et à partir de Septembre dans les autres villages. Cette étude malacologique a été menée en parallèle avec un contrôle parasitologique des populations qui fréquentent ces points d'eau afin de mieux comprendre l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire dans ces foyers à transmission saisonnière. Ainsi, la dernière partie de notre travail est épidémiologique et consiste à étudier la dynamique de la transmission en corrélant les suivis malacologique et parasitologique pendant les trois cycles de transmission.

Présentation de l'étude

La présente étude est donc un suivi longitudinal de la dynamique de l'infection à *S. haematobium* chez les populations humaines et chez les mollusques hôtes intermédiaires après un traitement unique répété pendant trois années successives de 2011 à 2014. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer l'effet d'un traitement annuel répété sur la transmission de *S. haematobium* pendant trois ans dans une cohorte de population et l'impact sur la réinfection dans le foyer à transmission saisonnières de Niakhar. Onze villages étaient

préalablement sélectionnés pour le suivi longitudinal. Mais seuls les 9 villages qui avaient un suivi complet durant les 7 phases de collectes d'urines (S0 à S6) étaient choisis pour cette étude. Il s'agit du village Gajak (V1), Godel (V2), Kocokh (V3), Logdir (V4), Ngalagne Kop (V5), Ngangarlam (V6), Poudaye (V7), Sob (V8) et Sass njafaj (V9).

Nous avons montré dans les deux premières études que les prévalences étaient élevées chez les enfants de 5 à 15 ans. Ce qui indique que le niveau de la parasitose est important dans la population globale. Afin de le confirmer, nous avons donc inclus dans la cohorte des personnes adultes. Cette étude a donc porté sur 624 sujets âgés de 5 à 60 ans. La population a été arbitrairement divisée en cinq classes d'âge : 5 - 7, 8-11, 12-15, 16-30 et 31-60 ans. La sélection a été faite comme dans la deuxième étude. Les critères d'inclusion étaient les suivants: i) être dans les villages pendant l'hivernage ii) avoir un âge compris entre 5 et 60 ans et iii) consentir à participer à l'étude durant les 3 années. Cette étude a eu lieu entre Juin 2011 et Mars 2014 et a été menée selon le calendrier de suivi (S) ci-dessous :

- Dépistage parasitologique de base en Juin 2011 (S0) ;
- Mesure de l'efficacité du traitement : trois traitements T1, T2 et T3 administrés respectivement en Août 2011, Avril 2012 et 2013. Les traitements étaient donnés à tous les individus positifs et ont été évalués respectivement en Septembre 2011 à (S1), en Juin-Juillet 2012 (S3) et en Juin-Juillet 2013 (S5). Les taux de guérisons (CR) ont été aussi évalués : CR1 (après T1) ; CR2 (après T2) ; CR3 (après T3) ;
- Control de la ré-infection : trois ré-infection s R1, R2 et R3 étaient contrôlées après chaque période de transmission en Février - Mars 2012 (S2), en Février - Mars 2013 (S4) et en Mars - Avril 2014 (S6). Les prévalences après ré-infection s ont été aussi évalués : P2 (après R1) ; P4 (après R2) et P6 (après R3).

La saisie et l'analyse des données ont été aussi réalisées comme dans la deuxième étude. Les taux de guérison (CR) et de réduction des fortes intensités de l'infection (> 49 œufs/ 10 ml d'urine) étaient considérés pour l'évaluation de l'efficacité des traitements.

Parallèlement à ce suivi de l'infection chez les populations humaines, la dynamique de l'infestation des mollusques dans les points d'eau de chaque village était aussi suivie durant chaque période de transmission de Juillet à Décembre comme nous l'avons montré dans la troisième étude.

Principaux résultats

Situation parasitologique de base dans la cohorte

Au début de l'étude, en S0, nous avons noté une prévalence élevée de *S. haematobium* au niveau de la cohorte de 57,7%. Nous avons également noté que 45,3% des sujets était fortement infectés. La prévalence et l'intensité de l'infection étaient significativement plus élevées chez les enfants en âge scolaire que chez les adultes ($p < 0,05$). Nos résultats ont montré qu'aucun homme de plus de 30 ans n'a excrété des œufs de *S. haematobium* (Table 2).

Dans les villages, les prévalences moyennes étaient de 68,8%, 52,2%, 42,5%, 49,3%, 92,9%, 62,7%, 43,4% et 36,9 % à V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 et V9, respectivement. Les fortes intensités de l'infection variaient de 92,9 % dans le village V4 à 20,4% dans V9. Des différences significatives de la prévalence et de l'intensité de l'infection ont aussi été notées entre les villages ($p < 0,001$).

Effets des traitements répétés de la cohorte sur l'infection et la ré-infection de la schistosomiase urinaire

Effet du premier traitement (T1)

Le T1 était administré en saison des pluies en Août 2011 et évalué en Septembre 2011. En considérant la population globale de tous les 9 villages, nos résultats ont montré de forts taux de CR (Cure rate) CR1 dans tous les 9 villages après le T1. A part le village V6 où nous avons estimé que le taux de guérison de 68,1% obtenu était moyen, dans tous les autres villages les CR1 étaient élevés et variaient entre 95,6% à V1 à 100% à V7 et V9. Les nouvelles prévalences P1 étaient de 5,1%, 1,4%, 2,3%, 0%, 8,8%, 21,5%, 3%, 1,9%, 6,6% dans V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 et V9 respectivement. Après le T1, les fortes infections étaient éliminées dans les villages V2, V4, V7, V8 et V9. Dans les autres villages elles étaient très fortement réduites de 50% à 3,6% (V1), de 29,8% à 2,3% (V3), de 100% à 7% (V5), et de 57,9% à 13,1% (V6). Aucune différence significative du CR1 n'a été observée entre les villages ($p < 0,05$). La prévalence moyenne (P0) a été significativement réduite de 57,7% avant T1 à 4,2% (P1) après T1 ($p < 0,05$). Il en était de même pour les fortes intensités de l'infection qui ont été réduites de 45,3% à 2,3% ($p < 0,005$).

La première ré-infection (R1)

La prévalence moyenne P1 qui était de 4,2% après T1 est passée à 9,5% (P2) après la R1 ($p < 0,05$). Le pourcentage moyen de sujets réinfectés en S2 après la saison de transmission de 2011 était de 6,3% (R1).

En considérant chaque village, nos résultats ont montré qu'aucune R1 n'a eu lieu dans les villages V3 et V8. Dans les autres villages, les niveaux de la R1 étaient de 20% (V1), 1,5% (V2), 4,3% (V4), 11,3% (V5), 33,3% (V6), 20% (V7) et 6,5% (V9). Aucune différence de la R1 n'a aussi été notée entre les villages ($p > 0,05$). Par rapport à la baseline (S0), dans chaque village, la prévalence P2 après la R1 était significativement plus faibles ($p < 0,05$). Avant le deuxième traitement, une prévalence globale (P2) de 9,5% était dans la cohorte en S2.

Effet du deuxième traitement (T2)

Le T2 était administré en période de non transmission en Avril 2012. Tous les 59 sujets positifs de la cohorte en S2 étaient traités et parmi eux, 57 ont été guéris, soit un CR2 de 96,6%. L'infection à *S. haematobium* était éliminée dans les villages V1, V2, V3, V4, V7, V8 et V9 après le T2. Dans les villages V5 et V6, les prévalences P3 étaient de 1,6% et 2,7%, respectivement. Les fortes intensités de l'infection ont été complètement éliminées dans les 9 villages après le T2. La prévalence moyenne globale P2 a diminué de 9,5% avant T2 à 0,3% (P3) après T2 en S3 ($p < 0,05$).

La deuxième ré-infection (R2)

La prévalence moyenne globale P3 qui était de 0,3% après T2 est passée à 11,2% (P4) après la R2 en S4 ($p < 0,05$). Le pourcentage moyen de sujets réinfectés en S4 après la saison de transmission de 2012 était de 10,8% (R2).

Aucune R2 n'a été enregistrée dans les villages V3 et V8. Dans les autres villages, les niveaux de la R2 étaient de 6,8% (V1), 10,1% (V2), 2,9% (V4), 5,4% (V5), 33,3% (V6), 32,3% (V7) et 20,4% (V9). Il n'y avait pas à nouveau de différence significative de la R2 entre les villages. La même chose a également été observée dans chaque village entre la R1 et la R2 ($p > 0,05$). Cependant, le taux global de la R2 était significativement plus élevé que celui de la R1 ($p < 0,05$). Dans chaque village, la prévalence P4 est à nouveau significativement plus faible que celle de base (P0) ($p < 0,05$).

Avant le troisième traitement, une prévalence globale (P4) de 11,2% était dans la cohorte en S4.

Effet du troisième traitement (T3)

Le T3 a aussi été donné dans la période de non transmission en Avril 2013. Tous les 69 sujets infectés en S4 étaient traités à nouveau. Le taux de guérison CR3 était de 91,3%.

La schistosomiase urinaire était encore éliminée dans les villages V2, V4, V7 et V8. Dans les autres villages les nouvelles prévalences P5 étaient de 0,7% (V1), 5,4% (V6), 1,5% (V7) et 2,3% (V9). La réduction de la prévalence P4 à P5 après le T3 était à nouveau très significatives ($p < 0,05$).

Les fortes intensités de l'infection étaient encore éliminés dans tous les villages sauf V1 et V6 où seulement 1 et 3 sujets avaient excrété plus de 49 œufs/10 ml d'urine, respectivement. Aucune différence significative du CR3 n'a été notée à nouveau entre les villages. En comparant les taux de guérisons après chaque traitement, nos résultats n'ont également pas montré des différences entre les CR1 et CR2 et entre les CR2 et CR3 dans chaque village ($p > 0,05$). Après le T3, la prévalence moyenne globale P4 a diminué de 11,2% à 0,9% (P5) en S5 ($p < 0,05$).

La troisième ré-infection (R3)

La prévalence moyenne globale P5 qui était de 0,9% après T3 en S5 est passée à 10,1% (P6) après la R3 en S6 ($p < 0,05$). Le pourcentage moyen de sujets réinfectés en S6 après la saison de transmission de 2013 était de 10,2% (R3).

La R3 était plus dynamique que les deux ré-infections précédentes. A part le village V3 où *S. haematobium* a été éliminé directement après le T2, dans tous les autres villages, la R3 était de 15% (V1), 2,9% (V2), 14,7% (V4), 3,6% (V5), 25,7% (V6), 15,4% (V7), 13,2% (V8) et 4,6% (V9). Contrairement aux deux premières ré-infections, nous avons noté une différence significative de la R3 entre les villages ($p < 0,05$). Nous avons aussi observé que le taux global de la R3 est supérieur à celui de la R1 au niveau des villages V1, V4 et V8 ($p < 0,05$). Le même constat a également été fait dans les villages V4, V5 et V8 entre la R3 et la R2 ($p < 0,05$). Cependant, dans l'ensemble de la population suivie pendant les trois cycles de transmission et après chaque traitement, le nombre de personnes réinfectées était toujours significativement plus faible que celui des personnes qui étaient infectées avant intervention en S0.

Les facteurs à risques de la ré-infection

A part les facteurs liés à l'écologie des villages tels que la proximité des concessions avec les points d'eau qui augmente le risque de ré-infection, nos résultats ont aussi montré que les enfants de 5 à 7 ans étaient plus exposés à la ré-infection. En effet, ils étaient

significativement plus réinfectés ($p < 0,001$) que ceux âgés de 8 à 10 ans et 11 à 15 ans en S4 et S6. Les adultes âgés de 16 à 30 ans ont connu de très faibles ré-infections durant les trois cycles de transmission. Aucun adulte de plus de 30 ans n'a été réinfecté tout le long du suivi. Les enfants masculins sont aussi plus exposés au risque de la ré-infection ($p < 0,001$).

Infestation des mollusques hôtes intermédiaires dans les points d'eau des villages étudiés

De 2011 à 2013, 10 798 mollusques hôtes intermédiaires (*B. senegalensis* et *B. umbilicatus*) étaient collectés dans les mares et le marigot des villages suivis. En 2011, nous n'avons pas trouvés de mollusques infestés dans l'ensemble des sites prospectés. En 2012, 13,8% de mollusques infestés étaient trouvés dans la mare fréquentée par les populations du village V6. En 2013, nous avons trouvés dans les villages V1, V4, V6, V7 et V8 des mollusques infestés. Les taux d'infestation étaient de 0,7%, 1,1%, 2,6%, 0,05% et 0,6%, respectivement. De fortes densités de mollusques ont aussi été notées dans ces villages. Nos résultats ont également montré qu'après le T3 au niveau de la cohorte et les deux traitements de masse chez les enfants en âge scolaire, le taux d'infestation des mollusques dans la mare du village V6 avait diminué de façon significative de 13,8% en 2012 à 4,9% en 2013 ($p < 0,05$). Dans l'ensemble des points d'eau prospectés, nous avons noté une diminution du taux global des mollusques infestés de 0,8% en 2012 à 0,5% en 2013 mais la différence n'était pas significative ($p > 0,05$) (tableau 5).

Conclusion

Les traitements répétés ont un impact effectif sur la prévalence, l'intensité de l'infection et la ré-infection de *S. haematobium* chez les populations utilisant des mares et des marigots temporaires de par la nature du système épidémiologique à transmission saisonnière. Ce qui n'est pas le cas dans le bassin du fleuve Sénégal où la transmission est permanente. Ainsi pour maintenir la prévalence à un niveau plus faible et impacter davantage sur la morbidité de la schistosomiase urinaire, une lutte malacologique adaptée consistant à traiter les mares entre Novembre et Décembre et en début Juillet serait la bienvenue.

Article 4

Transmission dynamics of *S. haematobium* after repeated annual treatment in a simple seasonal transmission focus in central Senegal

Bruno Senghor^{1,2§}, Omar Talla Diaw⁴, Souleymane Doucoure¹, Mouhamadane Seye⁴, Seydou Nourou Sylla³, Idrissa Talla⁵, Adiouma Diallo¹, Cheikh T Bâ², Cheikh Sokhna¹

¹Institut de Recherche pour le Développement, UMR 198 (URMITE), Campus International de Hann, IRD, BP 1386, CP 18524 Dakar, Sénégal. Tel: +221338493621. Fax: +221338324307.

²Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Département de Biologie Animale, BP 5005, Dakar, Senegal. Tel: +221338250530.

³Université Gaston Berger de Saint Louis, UFR Sciences Appliquées et Technologies, BP 234, Saint Louis, Senegal. Tel: +221339611906.

⁴Institut Sénégalais de Recherches Agricoles, ISRA, route des Hydrocarbures, Bel Air, Dakar, Senegal.

⁵Programme national de lutte contre les bilharzioses et les géo-helminthiases, ministère de la santé et de l'action sociale, Dakar, Sénégal.

§Corresponding author: Bruno Senghor E-mail address: bruno.senghor@ird.fr

Abstract

Background

The Niakhar district is endemic for urinary schistosomiasis. According to WHO directive, three years annual PZQ treatment (40 mg/kg) was necessary in school-age children and adults at risk. The aim of this study was to determine the effect of on annual repeated treatment during 3 years one the transmission dynamic of *S. haematobium*.

Methods

The study was carried out in nine villages in Niakhar, central Senegal (single *S. haematobium* seasonally focus). Urine of participants aged 5 to 60 years were collected and examined for *S. haematobium* eggs at baseline in June 2011. After this initial examination, 6 others successive time points corresponding alternatively to the evaluation of the efficacy of treatment and the control of re-infection were conducted from September 2011 to March 2014.

Results

At baseline, overall prevalence and heavy intensity of *S. haematobium* infection were 57.7 and 45.3%, respectively. After the first treatment done in August, the prevalence and proportion of heavy infection intensities were drastically reduced from 57.7% to 4.2% and 45.3 % to 2.3% respectively. The level of the first re-infection in February-March 2012 was 9.5%. At follow-up time points, prevalence levels varied slightly between the treatment and reinfection from 9.5% to 0.3%; 0.3% to 11.2%; 11.2 to 0.9% and 0.9 to 10.1% in June 2012, March 2013, June 2013 and April 2014, respectively. The risk of re-infection was higher in males children aged 5 - 11 years than in others children and adults. The overall rate of

infested Bulinid snails was reduced after repeated treatment from 0.8% in 2012 to 0.5% in 2013.

Conclusion

Repeated treatments have a real impact, due to the nature of the epidemiological system with seasonal transmission. Thus, to maintain a low prevalence and impact on morbidity of urinary schistosomiasis, a snails control should be considered.

Key words: *S. haematobium*, seasonal-transmission, annual treatment, re-infection, Niakhar, Senegal

Introduction

In Africa, urinary schistosomiasis remains a significant public health problem and causes 150.000 deaths / year with approximately 112 millions of cases (Steinmann *et al.*, 2006). The disease is caused by *Schistosoma haematobium* that is transmitted to human by the *Bulinus* snail, the intermediate host of the parasite. The transmission of *S. haematobium* is perennial in areas where the hydric system is permanent and occurs seasonally when the water sources for snail's development are temporary. The transmission of the disease is favored by poor hygiene conditions due to the absence of tap water in most of transmission areas (Engels *et al.*, 2002). In addition, the epidemiology of urinary schistosomiasis is strongly linked to social behaviors and the risk of the disease transmission is high in school aged-children (Ndir, 2000, Steinmann *et al.*, 2006). PZQ is currently the drug of choice for the treatment and the prevention against *S. haematobium* (Fenwick *et al.*, 2003, Doenhoff *et al.*, 2008) and most urinary schistosomiasis control programs are based on the use of this drug. The types of interventions with PZQ are implemented according to the prevalence of the disease. Annual PZQ mass administration during three years is recommended when the prevalence of the disease is > to 50 % in school aged children (WHO, 2002).

In Senegal, a recent study showed that, except the regions of Dakar and Thies, the level of urinary schistosomiasis infection is important and varies from 10% to over 50% (GAHI, 2012). The disease is most prevalent along the Senegal River Basin where the prevalence can reach 95 % due to the permanence of the transmission because water contacts are permanent (Webster *et al.*, 2013). In this area, several previous studies evaluated the effectiveness of one or repeated treatments and the re-infections during one or more years. The results showed a good efficacy of praziquantel on *S. haematobium* infection but reinfection occurs rapidly and the prevalence can reach the pre-treatment level (Verle *et al.*, 1994, De Clercq *et al.*, 1999, De Clercq *et al.*, 2000, De Clercq *et al.*, 2002, Webster *et al.*, 2013). In contrast, in areas with seasonal transmission, like as the Niakhar study zone, no study was conducted to evaluate the impact of repeated treatments in the transmission of *S. haematobium*. A recent study in this setting showed a high prevalence of *S. haematobium* (57.6) in school children (Senghor *et al.*, 2014a). Another study showed that a single dose of 40 mg/kg of PZQ has a significant impact on the prevalence, intensity of infection and re-infection in school age-children (Senghor *et al.*, 2014b). Monitoring and evaluation in different settings the performance of repeated treatments such as therapeutic impact is important for the schistosomiasis control. Therefore, there was a need to assess the impact of repeated treatments in area with seasonal water bodies. As treatment does not prevent against following infection, if contact is continued with fresh water bodies with cercarial shedding *Bulinus* sp. snails, re-infections can take place (Stothard *et al.*, 2013). Thus there was also a need to assess the effect of the repeated treatments in the infestations of snail intermediate host. The objective of this study is to evaluate the impact of repeated annual PZQ treatments for three years on the dynamic of *S. haematobium* infection in Niakhar, an area of seasonal transmission in central Senegal in order to propose strategies for disease control.

Materiel and Methods

Study area

A quantitative cross-sectional assessment of a cohort of population was conducted in Niakhar district in central Senegal from June 2011 to May 2014. The Niakhar study area (14°30' N, 16°30' W) is composed by 30 villages of 44 000 inhabitants and total area of 230 km² (Delaunay *et al.*, 2013). In this study area, temporally backwater and ponds are made during the rainy season between July and November. These water collections are the only sites where *S. haematobium* transmission occurs (Figure 1). From January until the end of June, the population of Niakhar is not exposed to *S. haematobium* as all water collections are dry. The risk of infection in this area is essentially due to domestic and recreational activities in the backwater and in the ponds. Before this study, the prevalence of *S. haematobium* infection among the school children was 57.6% (Senghor *et al.*, 2014a), indicating that an annual Praziquantel MA is needed to control the diseases in this area.

The study population included school-age children between 5-15 years and adults between 16 -60 years enrolled from nine villages of the study area of Niakhar: Gajak, Godel, Kocokh, Logdir, Ngalagne kop, Ngangarlam, Puday, Sass njafaj and Sob (figure 1). The hydrological network and the access of tap water vary from one village to another. The villages of Gajak, Godel and Kocokh have no access to tap water and use the backwater in the rainy season. The villages are crossed by a large backwater near the concessions. The main activities are especially bathing, swimming, fetching water, laundry, washing of pets and fishing. The part in the backwater is salty in the villages of Kocokh and Godel but population from Godel use also one pond located in the villages of Godel. Before this study, the highest prevalence was recorded in these villages (> 90%) (Senghor *et al.*, 2014a). The village of Logdir, Ngalagne kop, Ngangarlam, Puday, Sass njafaj and Sob use only ponds for the same activities except fishing. The hydrological network is very dense at Ngalagne kop, Puday and Logdir where the ponds are very in close to the concessions. At Sass njafaj and Sob the ponds are rare and fare from the concessions. At Ngangarlam, the ponds are also rare but in close to the concession. Among the six villages, using ponds, only Ngangarlam has no access to tap water. The lowest prevalence in 2010 before the study was recorded in these villages using only ponds (< 25%) (Senghor *et al.*, 2014a). Before the first years of the study, there was no mass PZQ administration. In the two last years, they were annual PZQ MA in others school age-children in the area.

Study design

This study consists of two major longitudinal surveys of *S. haematobium* infection: parasitological survey of a cohort of human populations and a malacological follow in the transmission sites. The nine villages were enrolled according to their *S. haematobium* prevalence, the type of water bodies and the access to self water reported in a previous study (Senghor *et al.*, 2014a). The study was conducted between June 2011 and April 2014. The inclusion criteria were: i) to reside in the studied villages during the rainy season, ii) to be aged between 5 - 60 years and iii) to consent to participate in the study. At each year, in all villages studied, the population was not in contact with water collections from December to June because Niakhar area is dry in this period (Senghor *et al.*, 2014b). From July to

November, ponds are filled with rain water and are popular. It was during this short period that people become infected and re-infected. The parasitological survey was conducted in four successive phases composed by eleven time points (S). The baseline phase (S0) consisted to determine the prevalence before treatment in the villages studied. The three others phases consisted to monitoring the three treatment efficacies and the three re-infection rates.

- Study of the baseline prevalence of *S. haematobium*: this phase was conducted in June 2011 (S0), before the beginning of the 2011 transmission period. At these time point, a baseline urine examination was conducted in all subjects selected for the study. A participant is considered infected by *S. haematobium* if at least one egg is found in urine sample during the microscopic observation.

-Monitoring the efficacy of first PZQ treatment (T1) and the first re-infection (R1): in early August 2011, after the baseline phase, first PZQ (40 mg/kg) treatment (T1) was administered to all the subjects, infected or not at the health centers of the study area in the presence of a nurse. Five weeks, after treatment, in September 2011 (S1), one urine sample was collected from each individual to assess the efficacy of the treatment. Each individual is considered cured at this time point if no egg was found in the urine sample examined. The cure rate 1 (CR1) was evaluated in each village. The first re-infections (R1) were monitored between February and March 2012 (S2) when, all water collections are totally dry and *S. haematobium* transmission does not occur. Urine samples were collected to determine the rate of re-infection. This monitoring of the re-infection involved participants who were cured after T1 and those who were negative at the baseline. Each negative individual at the S1 time point is considered re-infected if at least one egg was found in the urine sample at S2.

-Monitoring the efficacy of the second PZQ treatment (T2) and the second re-infection (R2): the second treatment (T2) was done in none transmission period in April 2012 after the control of the R1. All children positive or not at S2 are received a second dose of PZQ. In the adult persons, PZQ was administered at only those who were positive at this time point. The monitoring of the T2 and the R2 were done in the 2012 non transmission period between June and July 2012 and February-March 2013 (S3), respectively. The same parameters were considered for the evaluation of the cure rates 2 after T2 (CR2) and the monitoring of the R2.

-Monitoring the efficacy of the third PZQ treatment (T3) and the third re-infection (R3): the third treatment (T3) was also given in the non transmission period in April 2013 after the monitoring of the R2. All the children positive again or not at this time (S4) received the third treatment. Only adult persons who were also infected at this period were treated. The monitoring of the T3 and the R3 were also conducted in the 2013 non transmission period between June and July 2013 (S5) and between March and April 2014 (S6), respectively. The same parameters were also considered for the evaluation of the cure rate 3 after T3 (CR3) and the monitoring of the R3. The design of the study was detailed in figure 2.

At each year during the period of transmission from July to November, malacological surveys were cared in the transmission sites of each village to study to snail's infestation by *S. haematobium*.

Data collection

At baseline, in each village, urine samples were collected from all subjects who were registered between the ages of 5 and 60 years (S0). Plastic screw-vials were given to each participant to provide urine sample. The samples were collected between 10 and 14 a.m., transferred to the Niakhar laboratory and analyzed the same days. Each urine sample was shaken to ensure dispersal of eggs before filtered 10mls through Swinnex® filter. Microscopic examination of each urine sample for detection of *S. haematobium* eggs was performed using the filtration method (Plouvier *et al.*, 1975). A drop of Lugol's iodine was added to filters before examination under a microscope slide for the presence of *S. haematobium* eggs. *S. haematobium* positivity and the number of eggs per filter were recorded. Egg counting was recorded as number of eggs per 10mls of urine. The infection intensity was classified as light (1-49 eggs/10 ml of urine) or heavy (≥ 50 eggs/10 ml of urine), as defined by the World Health Organization (WHO, 2002). The prevalence of infection was recorded for the entire member participating at this time points of the survey (S0). In the subsequent follow-up surveys (S1, S2, S3, S4, S5 and S6), the sampling procedure and the urine examination were carried out as detailed above.

To prove the existence of the transmission in the backwater and the ponds and to evaluate the effect of treatments in the infestation of the snail's intermediate host, malacological survey was carried in these waters bodies. Snail's intermediate hosts from transmission sites in each village studied were sampled and examined for cercarial shedding. Snails were collected from water bodies around the villages. They were collected and placed in plastic pots containing a few aquatic plants and water of the site to prevent them from dying and then transported to the laboratory of Niakhar. At the laboratory, the snails were morphologically identified as *Bulinus spp* the intermediate hosts of *S. haematobium* in this area by using a key for snails identification (Diaw *et al.*, 1999). The cercarial shedding tests was carried out by placing the snails in glass tubes containers with 10mls of filter water and were incubated on indirect sunlight or to electric light for 30 to 40 minutes and observed for cercarial shedding. The cercariae were then checked under a dissecting microscope and only, the *S. haematobium* cercariae were recorded.

Data analysis

Data from each village were recorded using Epi-Info software, version 3.5.1(August 13, 2008) and analyzed by STATA 11.1. Two villages are not attending all the follow up surveys and their data were not considered in this longitudinal analyzes. The relationships between characteristics of human infection prevalence, intensity of infection and other variables, such as villages, sex and age of children, were tested at baseline. Prevalence, re-infection rates and intensity of *S. haematobium* infection before and after each treatment were compared using the 2×2chi-squared test or the Fisher –exact test (Kirkwood & Sterne, 2003). PZQ efficacy was measured by determining both cure rate (CR) and the reduction of the heavy intensity of the infection. The CR is the percentage of children positive for egg-patent infection becoming negative after drug treatment (Tchuem Tchuente *et al.*, 2013). For test the change in cure rate, the Mann–Whitney test was used. In all case, a *P*- value < 0.05 was taken to indicate statistical significances. The changes in the snail infestation rates after treatments were

compared using OpenEpi, version 3 (free calculation software-TwoByTwo). <http://www.openepi.com/TwoByTwo/TwoByTwo.htm>

Ethical considerations

The study was part of a larger investigation on schistosomiasis epidemiology, transmission and control in Senegal and which was approved by the Senegalese National Ethics Committee (reference n° SN11/57). The objectives of the study were explained to the adult and young participants and they were invited to participate. For the youngest, the objectives were also explained to their parents or legal guardians from whom written informed consent was obtained.

Results

Characteristics of the study population

Nine villages Gajak (V1), Godel (V2), Kocokh (V3), Logdir (V4), Ngalagne kop (V5), Ngangarlam (V6), Poudaye (V7), Sass njafaj (V8) and Sob (V9) were selected for the study. A total of 624 subjects composed the cohort at baseline. Female and male subjects represented 51.3% and 48.7% respectively. The majority of participant was enrolled in the village of Gajak (22%) and the minority in Sob (7%). The population was classified into five age-groups 5 - 7, 8 – 11, 12 - 15, 16 - 30 and 31 - 60 years represented 28.8%, 24.3%, 14.4%, 17.5%, and 14.9% respectively. Table 1 summarizes the demographic characteristics of the cohort. The reduction in the numbers of subjects at each time points was due to absence, non-cooperation or death.

Baseline prevalence and intensity of *S. haematobium* infection between sex and age

Among the 624 examined at S0, 360 (57.7%) were infected by *S. haematobium*. The infection rate was higher in males (62.4%) than females (46.6%). The same trend was observed for the intensity of infection which was 62.8% and 28.5% for males and females, respectively. Significant differences in prevalence and intensity according to sex were noted ($P < 0.05$). Prevalence of *S. haematobium* increased according to age in subjects aged 5 to 11 years before declining from those aged 12 to 15 year-olds. The prevalence's were 60%, 82.9%, 76.7%, 31.2% and 24.7% in the age-group 5- 7, 8-11, 12-15, 16-30 and 31-60 years. The same trend was noted in the proportion of heavy intensity infection. The rates were 48.8%, 71.7%, 70%, 17.4% and 4.3% in the 5-7, 8-11, 12-15, 16-30 and 31-60 age-groups. No men aged over than 30 years were found infected by *S. haematobium*. Significant differences in the prevalence and intensity of infection were noted between age-groups ($P < 0.001$) (Table 2).

In all the nine villages, the baseline survey revealed high prevalence levels of urinary schistosomiasis. Throughout the study, the prevalence levels of infections were not very dynamics within and between villages, with slight varying response to the three round of chemotherapy. The prevalence of *S. haematobium* infection were 68.8%, 52.2%, 42.5%, 49.3%, 92.9%, 62.7%, 43.4% and 36.9 % in the village V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 and V9, respectively (Table 3). The heavy infection intensity varied from 92.9 % in the V4 village to 20.4% in V9. Significant differences in the prevalence and intensity of infection were noted between villages ($P < 0.001$) (Table 4).

Cure Rate1 and intensity reduction1 by village

Among the 360 infected subjects, 354 were treated at T1 and monitored for PZQ efficacy at S1. Six subjects were not treated due to their absence. A total of 337 subjects were cured. The overall CR1 was 95.2%. After the T1, the overall prevalence was significantly reduced from

57.7% to 4.2% ($P < 0.05$). Significant decreases of P0 were noted in each village ($P < 0.05$). Prevalence P1 after T1 were 5.1%, 1.4%, 2.3%, 0%, 8.8% , 21.5%, 3%, 1.9% and 0% in V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8 and V9, respectively (Table 3). CR1s were high in the all nine villages. Except the V6 village where CR1 was 68.1%, in others villages the CR1 varied between 95.6% at V1 to 100% at V7 and V9 (Table 3). The same trend was observed with the heavy intensity infection. The overall intensity of infection decreased from 45.3% at S0 to 2.3% at S1 ($P < 0.05$). The heavy infections were eliminated after the T1 in V2, V4, V7, V8 and V9. In the others villages they were very low and varied from 2.3% in V3 to 13.3% in V6. No significant difference of CR1 was observed between villages ($P > 0.05$) (Table 4).

Re-infection 1 by village

Among the 598 participants who were negative after T1 at S1 and monitored at S2 for first re-infection (R1), 38 (6.3%) were re-infected during the 2011 transmission season. The overall prevalence P2 in the population was 9.5%. No R1 has occurred in the villages V3 and V8 where low prevalence P0 was recorded. In the others villages, the R1 rates were 6.8%, 1.5%, 4.3%, 11.3%, 33.3%, 20% and 6.5% in V1, V2, V4, V5, V6, V7 and V9, respectively. The patterns of R1 with *S. haematobium* showed no statistical difference between villages ($P > 0.05$). But significant increase of P1 to P2 was noted in V7 ($P < 0.05$). Compared to the S0 survey, in each village, the prevalence after R1 was significantly lower ($P < 0.05$) (Table 3). The overall heavy intensity infection at S2 (5.8%) was also significantly lower than the baseline (45.3%) ($P < 0.001$) (Table 4).

Cure Rate 2 and intensity reduction 2 by village

All of the 59 infected subjects at S2 were treated at T2 and monitored for PZQ efficacy at S3. A total of 57 subjects were cured. The overall CR2 was 96.6%. After the T2 PZQ, the overall prevalence P2 decreased from 9.5% to 0.3% at S3 ($P < 0.05$). Significant decrease of P2 to P3 was also noted in each village ($P < 0.05$). *S. haematobium* infection was eliminated in the villages V1, V2, V3, V4, V7, V8 and V9. In the two last villages P3 and CR3 were 1.6% - 90% and 2.7% - 90% at V5 and V6, respectively. No significant difference of CR2 was observed between villages. The same trend was observed in each village between the CR1 and CR2 ($P < 0.05$) (Table 3). The heavy intensity infections were eliminated in all the nine villages after T2 (Table 4).

Re-infection 2 by village

After T2, 616 participants were negative at S3. Among them, 610 were examined at S4 for R2 re-infection and 66 (10.8%) were re-infected in the 2012 transmission season. The overall prevalence P4 in the population was 11.2%. No R2 re-infection has also noted in the villages V3 and V8. In the others villages, the R2 re-infection rates were 6.8%, 10.8%, 2.9%, 5.4%, 33.3%, 32.3% and 20.4% in V1, V2, V4, V5, V6, V7 and V9, respectively. There was no significant difference of the R2 between villages. The same trend was also observed in each village between R1 and R2 ($P < 0.05$). However, there overall rate of R2 was significantly higher than the R1 ($P > 0.05$). Significant increase of P3 to P4 was noted in the village V1, V2, V6, V7 and V9 ($P < 0.05$). Compared to the prevalence P0 in each village, the prevalence P4 was also significantly lower ($P < 0.05$) (Table 3). The heavy infection intensity at S4 increased and varied between 1.5% at V4 to 27.2% at V6 but they remained significantly low than baseline ($P < 0.05$). The overall heavy intensity infection (6.8%) was always significantly lower than the baseline (45.3%) ($P < 0.001$) (Table 4).

Cure rate 3 and intensity reduction3 by village

All of the 69 infected subjects at S4 were treated at T3 and 63 (91.3%) were cured at S5. After the T3, the overall prevalence was also significantly reduced from 11.2% at S4 to 0.9% at S5 ($P < 0.05$). Significant reduction of P4 was also noted in all villages ($P < 0.05$). *S. haematobium* infection was yet eliminated in the villages V2, V4, V7 and V8. In the four others village there was also significant reduction of the P4 ($P < 0.05$). The P5 prevalence in these villages was 0.7%, 5.4%, 1.5% and 2.3% at V1, V6, V7 and V9, respectively (Table 3). The heavy intensity infections were yet eliminated in the villages except the V1 and V6 where 1 and 3 children respectively had more than 49 eggs/10 ml of urine, respectively. The overall heavy intensity infection (6.8%) at S4 was significantly reduced to 0.6% at S5 ($P < 0.05$). No significant difference of the CR3 was observed between villages ($P > 0.05$). The same trend was observed in each village between the CR1 and CR3 and also between the CR2 and CR3 ($P > 0.05$).

Re-infection 3 and intensity infection 3

A total of 607 participants were negative at S5 after the T3 and examined for the R3 re-infection at S6. Among them, 62 (10.2%) were re-infected in the 2013 transmission season. The overall prevalence P6 in the population was 10.1%. Except the V3 where *S. haematobium* was eliminated directly after the T2, the R3 re-infection increased in all villages compared to the situation at S5. The rates were 15%, 2.9%, 14.7%, 3.6%, 25.7%, 15.4%, 13.2% and 4.6% at V1, V2, V4, V5, V6, V7, V8 and V9, respectively. There was a significant difference of the R3 between villages ($P < 0.05$). A significant increase of the re-infection between the R1 and R3 in the villages V1, V4 and V8 was observed. The same trend was also noted between the R2 and R3 in the villages V4, V5, and V8 ($P < 0.05$). In the V6 and V7 where the previous re-infections were higher than others villages, there was a significant reduction of R3 compared to R1 and R2 in the first village ($P < 0.05$) and a important decreased in the second. The overall R3 was significantly higher than the R1 ($p < 0.05$) but there was no significant difference with the R2 ($P > 0.05$). Significant increase of P5 to P6 was noted in the village V1, V4, V7 and V8 ($P < 0.05$). However, the overall prevalence P6 was significantly lower compared to the P0 in each village ($P < 0.05$) (Table 3). The overall heavy intensity infection increased from 0.6 % at S5 to 6.8% at S6 but they still remained significantly lower than the baseline (45.3%) ($P < 0.001$). The same trend was noted in each village (Table 4).

Prevalence and infection intensity changes according to sexes and age-groups

The change in prevalence and infection intensity after each treatment and re-infection according to age sex and are shown in table 3 and Table 4, respectively. After the T1, schistosomiasis was eliminated in adult subjects aged over than 15 years. In children between 5-15 years, there was a significant reduction of these two parameters ($P < 0.05$). After the two last treatments, the prevalence and infection intensity were eliminated in the adult persons and quite eliminated in children. Among the groups under 15 years, children aged 5 to 7 years were most reinfected than those from 8-11 and 12-15 years throughout the study. The difference was significant at S4 (21%, 11% and 12%) and at S6 (20%, 12% and 8%), respectively ($p < 0.001$). The adults aged 16 to 30 years experienced very low reinfection (1%, 2% and 1% at S2, S4 and S6, respectively). Throughout the study, no reinfection occurred in adults over 30 years (Figure 3A and B).

According to sexes, the same significant decrease of prevalence and infection intensity after each treatment was noted in both male and female ($p < 0.05$), with no female harbored heavy infection after T1. However, after each transmission period, male subjects especially children were significantly more re-infected than female at S2 (10% and 2%), S4 (9% and 5%) and S6 (9% and 4%) ($p < 0.001$) (Figure 4A and 4B).

Cercarial shedding from fresh water Bulinid snails

From 2011 to 2013, 10 798 snail intermediate hosts (*B. senegalensis* and *B. umbilicatus*) were collected in 13 ponds and the backwater frequented by the populations of the nine villages surveyed. The total number of snails tested for cercarial shedding was 6948 and the overall rate of infected snails 0.49%. In 2011, a total of 530 snails were tested but none was found infected by *S. haematobium* in all villages. In 2012, the total number of snails tested was 979 and the overall rate of infected snails was 0.8%. All the infected snails in 2012 were found in *B. umbilicatus* in July in the pond of the V6 village. The rate in this water body was 3.5%. In 2013, the rains were more abundant than previous years and the number of snails collected in all transmission sites was very important (5437). The overall rate of infected snails was 0.5%. Sampled snails from the waters bodies in the villages V1, V4, V6, V7 and V8 were issued *S. haematobium* cercariae. The infection rates were 0.7%, 1.1%, 2.6%, 0.05% and 0.6%, respectively. After the Three treatments, significant decrease was observed in the infestation rate of infected *B. umbilicatus* in the villages V6 from 13.79% in 2012 to 4.98% in 2013 ($p < 0.05$). The same decrease was observed in the overall infestation rate of snails collected in all transmission sites from 0.8% in 2012 to 0.5% in 2013, but the difference was not significant ($p > 0.05$) (Table 5) (Table 5).

Discussion

Our study is the first investigation to assess the efficacy of three consecutive annual treatment of PZQ given during three years and the effects on re-infection dynamics of *S. haematobium* infections in a single seasonally transmission focus. Before treatment, higher prevalence and intensity of infection in the global population was recorded in one of the two villages using only the backwater that are near to the concession. This difference is caused by the ecology of the backwater whose water is salty in South of area at the level of the village of Kocokh, while to the North, in the village of Gajak, the water from the backwater is yet fresh and allows the development of snails intermediate host, which thus continue to transmit the disease. This could explain the decrease of prevalence in the village of Kocokh where the highest prevalence was recorded in school-children in our previous study (Senghor *et al.*, 2014a). The same decrease of prevalence compared to the 2010 study was noted in the village of Godel where habitants use also a salty part of the backwater. But the level of prevalence in 2011 was still greater than 50% due to the fact that one pond in the village was also used. Despite the ecology of the backwater in these villages, the prevalence still remained at high level because they don't have access to tap water. In addition no mass PZQ treatment has been done before 2012. In the village using only ponds, there is no change in the prevalence between the previous study (Senghor *et al.*, 2014b) and the level of the current study. High prevalence's were always recorded in the villages with high density of ponds which are near the concession like at Ngalagne kop, Puday and Logdir. The lowest level of transmission is found in Sass njafaj and Sob which has a poor ponds system not in close to the concession. In addition these two villages have an important level of access of taper water due to the

presence of functional boreholes. In the village of Ngangarlam where ponds system is also poor, the prevalence was high. This village has a rather particular epidemiological situation. In fact, in addition to the absence of tap water, the highest infestation rates of snail intermediate host were always recorded in the ponds used by these populations. This pond is not far to the concessions and it is also used by other villages outside the area. In general, the results of the current study confirm the heterogeneity of *S. haematobium* infection between the villages in Niakhar (Senghor *et al.*, 2014b). This observation agrees with other reports conducted in Nigeria (Ugbomoiko *et al.*, 2010, Ladan *et al.*, 2012) where variability and epidemiology of the disease were attributable to water-contact patterns. It is also similar to the other previous study, who showed in south west Cameroon that villages without pipe-borne water access maintained a high level of infection (Nkengazong *et al.*, 2013). The high overall prevalence level noted in the population studied may be due to the fact that the majority of subjects were school-age children which are more exposed to the infection than adult persons which were slightly infected at baseline. The same trend was reported in previous studies in the Gambia (Wilkins *et al.*, 1987), at Mbodiene in Senegal (De Clercq *et al.*, 2000) and in Kenya (King, 2006), targeted children and adult. These findings confirm a recent investigation that has shown high prevalence and infection intensity of *S. haematobium* in school children aged 7 to 15 years of the Niakhar district (Senghor *et al.*, 2014a). The difference between children and adults in the Niakhar study area could be explained by difference of water contact which is very low for adults especially in men. But according to previous studies, this difference could be due to the fact that a smaller proportion of eggs reach the exterior in adult subjects because of fibrosis of the bladder wall or for some other reason (Wilkins *et al.*, 1987). Further studies are needed in the area to investigate the variation of susceptibility to the acquisition of *S. haematobium* with age. The difference within adult gender was due to the fact that women often go to the ponds or backwater for washing clothes, this leads them to be more in contact with the infested water. The presence of infection in the adults shows that they were probably infected and reinfected from their young age and had continued to keep the parasites, since they had never received treatment. Further clinical studies should be carried in adults to assess morbidity due to *S. haematobium*. This epidemiological situation in the Niakhar study area could be explained by the lack of health education and poor hygiene resulting in frequent contact with ponds and the backwater which is the main places of *S. haematobium* transmission during their short period of water. In addition, before this investigation, any strategy, i.e. PZQ mass drug administration and health education, has been implemented to control the transmission of the disease (Senghor *et al.*, 2014a, Senghor *et al.*, 2014b). The first treatment reduced significantly the prevalence and infection intensity in school children aged 5 -15 years and cured all infected adult person in all villages of the study area. High intensity infections were virtually eliminated achieving the aim of reducing morbidity and therefore confirming the efficacy of a single 40 mg/kg dose of PZQ in Niakhar (Senghor *et al.*, 2014b). Similar impact of one dose of PZQ 40 mg/kg was observed in two villages (Diatar and Guia) using irrigate canal in the Senegal river basin (Shaw *et al.*, 1999) but also in Burkina Faso after large-scale administration of praziquantel (Koukounari *et al.*, 2007). The CR and intensity reduction in the current study were higher than that were observed in previous studies conducted in strict single seasonally *S. haematobium* transmission foci (Wilkins *et al.*, 1987). The lowest cure rate observed in the

village Ngangarlam (68.1%) was probably due to a rapid re-infection in the village, as the snails collected in July 2012 and 2013 in the pond used by populations were found infected and this pond was popular after the first rains in July. Note also that this treatment T1 was done in August during transmission period that could also explain the low CR observed in this village compared to others. Indeed at this time where we followed efficacy of treatment, the immature stages of schistosome (not susceptible to praziquantel) that had infected the subjects before treatment would all have developed to mature adult worms (Magnussen, 2003). In the others villages, the seasonality of transmission in the area has meant that the efficacy of this treatment has not been affected by re-infection because transmission starts in September as shown by the results of parallel malacological survey. In 2012, the cycle of survey was most complete because the second treatment took place in April in the dry season where no transmission was possible and the control was done at 3 to 4 months from June to early July, just before impoundment of transmission sites. All worms were adults at this time and were exposed to praziquantel. The heavy infection intensities were completely eliminated in all villages. CRs were 100% except the V5 and V6 villages where a single subject had excreted more than 49 eggs per 10 ml of urine, possibly due to residual eggs still being excreted from the initial infections (Webster *et al.*, 2013). But this high impact of the second treatment could be due to the little number of infected subjects which was treated due to the low levels of re-infection attributed to the particularity of these ecosystems with a seasonal transmission. However, this result confirms again the efficacy of the PZQ against *S. haematobium*. In 2013, the survey was performed as the precedent with the third treatment that takes place in May and the control always conducted between June and July. Similar effect on the *S. haematobium* infection was noted.

PZQ repeated treatments had a positive impact on reducing the prevalence of *S. haematobium*, thus prevalence in the cohort significantly dropped from an average of 57.7% in 2011 before the first treatment to 10.1% in 2012 and maintained at a very low levels in 2013 (10.8%) and 2014 (10.1%) after the two treatments respectively. These results are in agreement with the findings in Mali in which a significant reduction of infection from baseline was observed after repeated Praziquantel treatment among school children (Landoure *et al.*, 2012). Our experience and the results of other similar treatment programs (Savioli *et al.*, 1990, Hatz *et al.*, 1998), indicate that regular treatment of school-age children can significantly reduce the levels of morbidity in *S. haematobium*-affected populations. Therefore this study suggests that in area with seasonal transmission, the best time of the treatment should be in the non transmission period between March and May. In each village, no difference was found between the CR1 and CR2 as well as between the CR1 and CR3 and also between CR2 and CR3. The same trend was obtained in the reduction of heavy intensity infection, while pre-patent infection intensity showed significant difference. These results could be explained by the effect of the first treatment, whose impact on infection was felt over the next two years. The results are similar to that reported in Tanzania and Burkina Faso in which a single round of Praziquantel MA significantly reduced prevalence of *S. haematobium* infection (Toure *et al.*, 2008, Chaula & Tarimo, 2014). Similar long-term impact of one treatment of PZQ on *S. haematobium* infection was also reported two, three and six years post-treatment in previous studies conducted in Tanzania (Poggensee *et al.*, 2005), Niger (Garba *et al.*, 2004) and in Mali (Toure *et al.*, 2008), respectively. It was also demonstrated that a single treatment

dose seems to have a long-lasting effect on morbidity at the individual level (up to 2 years) in areas of moderate transmission (Magnussen, 2003). The control of urinary schistosomiasis is most beneficial in the temporally pond and backwater system after repeated annual treatment of PZQ 40 mg/kg because it induces a significant reduction of the infection intensity. Except the village of Kocokh, where no cases have been detected from the first treatment, the reinfection has slightly varied from one year to another within a village and between villages. Our mapping of surveyed concessions in the village has indicated heterogeneity on the proximity with the water bodies as indicated in the figure 1. Malacological parallel survey in transmission sites also showed differences in the dynamics of snail Bulinid from one year to another within and between villages. The small change in prevalence between S1 and S2 noted in the villages V1, V2, V6, V8 and V9 was probably due to similar low transmissions in the different water-contact sites. Indeed, in 2011, no snail collected had issued cercariae of *S. haematobium* probably due to the low density of snail's intermediate host. In the V6 and V7 villages, transmission appears to be more dynamic. In the V6 village, the transmission starts early in July. In addition, it is a village that has no access to safe drinking water. In the V7 village, the increase of reinfection could be explained by the close proximity of ponds which could encourage frequent contact with water. Moreover, it was in these ponds that densities of snails are more important. The lack of re-infection in the V3 village could be due to the ecological characteristic of the backwater sites in this village. No snails has been found in these sites frequented by the population throughout the study, while in V8 village the lack of re-infection could be explained by the level of prevalence and infection intensity at baseline which was the lowest but also by the low density of snails in 2011 and only one pond was used in this village. In addition, it is a village with high access level of tap water. In general the results obtained in ours villages largely differ with those reported 7 months after one treatment in the 'lac de Guier' in Senegal River basin where the prevalence of infection had returned to pre-treatment levels (De Clercq *et al.*, 2000). In 2012 and 2013, mass administration of PZQ was done in the area at school age-children. In 2012, the same trends one re-infection was also noted between villages with higher R2 in the V6 and V7 villages but there was no significant difference with the R1. This could be explained by the factors mentioned above but also by the effect of our two first treatments and the first PZQ MDA. These combined effects of both treatments allowed to cur a large number of infected children and therefore a decrease of the snail contamination in the transmission sites. In 2013, rains were more abundant and very high densities of snails were recorded. But two interesting facts were noted. The first was observed in V6 and V7 villages where the transmission was very dynamic. The reinfection R3 was lower than previous years. In the V7 village, reinfection was significantly reduced from 2012 to 2013. In the V6 village, reinfection in 2013 was low compared to the previous reinfection. This decrease of reinfection is due to the combined effect of the repeated treatments (three treatment in cohort and two PZQ MDA in others children) which resulted in a considerable reduction of viable eggs that will be excreted in the ponds and the backwater and consequently a reduction of the snail contamination in the transmission sites. The impact of repeated mass treatment was well felt in the V6 village where there was a significant reduction in the rate of infection of *B. umblicatus* in 2013. The second interesting observation was noted in the V1, V4 and V8 where the two previous re-infections are low. In fact, significant increase of the third re-infection was noted compared to

the others. This could be explained by the high density of the snails and the fact that a number of *B. senegalensis* were infested in 2013 in the water bodies used by these populations. This could also be due to the fact that some children who did not treated during the PZQ MDA campaigns are likely to be the source of shedding *S. haematobium* eggs in the environment and contamination of fresh water bodies with *Bulinus spp.* snail intermediate hosts. As treatment does not prevent or protect against subsequent infections (McManus & Loukas, 2008), if water contact is continued with these water bodies potentially infested with *S. haematobium* cercariae, re-infection can occur (Stothard *et al.*, 2013). This shows that contamination of the backwater and the ponds with schistosome eggs is still ongoing in the Niakhar area. In general, in this study, factors such as age and gender are the case of the increases in prevalence observed after each treatment in almost all villages. School age children especially the male aged 5-7 and 8-11 years in 2011 were in one part the most responsible of the change of prevalence and intensity of infection between S1 and S2, S3 and S4 and between S5 and S6. This is due to the fact that in the study area of Niakhar, this group of children is responsible for risk activities (Senghor *et al.*, 2014a). Similar results were found in others studies where children under the age of 10 years were more heavily reinfected, on average, than those aged between 10 and 14 years, while adults experienced very low reinfection (Wilkins *et al.*, 1987). The difference in infection between age groups in the community was due to the fact that at Niakhar study area, the pattern of water contacts changes with age, because children spend more time playing and swimming in the water than adults do. Treatment of affected adults over than 30 years led to a rapid elimination of infection and no reinfection has occurred throughout the study. The same rapid resolution of infection in affected adults was reported in a Kenya study, but reinfection had occurred during the third year of parasitological follow-up (King *et al.*, 1991). Therefore, it's would be early for us to conclude that continued treatment into adults in this study zone is not necessary. In the Niakhar study area, water is present from July to November. Therefore, owing to the high concentration of infections in children, the overall low reinfection levels and the short period of transmission, it is suggested that in this area the best treatment schedule could be annual selective treatment targeted school-aged children between March and June. Despite a significant reduction of prevalence and intensity after each treatment, the reinfection of *S. haematobium* increase significantly even if they stayed significantly lower than the baseline during the three years of the survey. A prevalence of 10.1% is still within the cohort studied in 2014 indicating the continuity of *S. haematobium* transmission by snail intermediate hosts. A total of 10.798 *Bulinus spp.* snails, the principal intermediate hosts were sampled during the parallel malacological survey from 13 ponds and the backwater associated with human water contacts indicating the potential for *S. haematobium* transmission in this area. The fact that in the 5.437 snails subjected to cercarial shedding tests in 2013, 26 (0.5%) were found shedding schistosome cercariae in 5 of the 9 villages surveyed, indicate that these snails were sampled from ponds and backwaters transmission sites contaminated with *S. haematobium* viable eggs. This shows that contamination of water with schistosome eggs is still ongoing. The findings therefore call for consideration of snails control to be integrated with MDA campaigns so as to achieve transmission interruption.

Conclusion

Significant reduction of prevalence and intensity of *S. haematobium* infection were achieved in highly-endemic seasonal transmission focus of Niakhar after repeated annual treatment. However, persistent low prevalence of re-infections in the school age-children and the presence of infected snails indicate the continuity of transmission. The results of this study show that the understanding of the epidemiology of urinary schistosomiasis requires a combination of malacological and parasitological follow-up. Repeated treatments have a real impact, due to the nature of the epidemiological system with seasonal transmission. This is not the case in the BFS where transmission is continued. Thus, to maintain a low prevalence and impact on morbidity of urinary schistosomiasis, a snails adapted control between November and December should be considered.

References

- Chaula, S. A. and D. S. Tarimo, 2014: Impact of praziquantel mass drug administration campaign on prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* among schoolchildren in Bahi district, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*, **16**.
- De Clercq, D., C. Hanne and J. Vercruyssen, 2000: Selected chemotherapy and seasonally transmitted *Schistosoma haematobium* infections in the middle valley of the Senegal River Basin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**, 198-199.
- De Clercq, D., J. Vercruyssen, A. Kongs, P. Verle, J. P. Dompnier and P. C. Faye, 2002: Efficacy of artesunate and praziquantel in *Schistosoma haematobium* infected schoolchildren. *Acta tropica*, **82**, 61-66.
- De Clercq, D., J. Vercruyssen, M. Picquet, D. J. Shaw, M. Diop, A. Ly and B. Gryseels, 1999: The epidemiology of a recent focus of mixed *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* infections around the 'Lac de Guiers' in the Senegal River Basin, Senegal. *TM & IH*, **4**, 544-550.
- Delaunay, V., L. Douillot, A. Diallo, D. Dione, J. F. Trape, O. Medianikov, D. Raoult and C. Sokhna, 2013: Profile: The Niakhar Health and Demographic Surveillance System. *International Journal of Epidemiology*, **42**, 1002-1011.
- Diaw, T., O. Ndir and M. G. Toupane, 1999: *Guide de surveillance malacologique et de lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires des bilharzioses*, p. 60. Ministère de la santé. Service national des grandes endémies.
- Doenhoff, M. J., D. Cioli and J. Utzinger, 2008: Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Curr Opin Infect Dis*, **21**, 659-667.
- Engels, D., Chistsulo, A. Montresor and L. Savioli, 2002: The global epidemiology situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta tropica*, **82**, 139-146.
- Fenwick, A., L. Savioli, D. Engels, N. Robert Bergquist and M. H. Todd, 2003: Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends in Parasitology*, **19**, 509-515.
- GAHI, 2012: Distribution of *S. haematobium* survey data in Senegal. Available at: <http://www.thiswormyworld.org/fr/maps/2013/distribution-of-s-haematobium-survey-data-in-senegal> (accessed 23/09/14).
- Garba, A., G. Campagne, J. M. Tassie, A. Barkire, C. Vera, B. Sellin and J. P. Chippaux, 2004: Long-term impact of a mass treatment by praziquantel on morbidity due to *Schistosoma haematobium* in two hyperendemic villages of Niger. *Bull Soc Pathol Exot*, **97**, 7-11.
- Hatz, C. F., B. J. Vennervald, T. Nkulila, P. Vounatsou, Y. Kombe, C. Mayombana, H. Mshinda and M. Tanner, 1998: Evolution of *Schistosoma haematobium*-related pathology over 24 months after treatment with praziquantel among school children in southeastern Tanzania. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **59**, 775-781.
- King, C. H., 2006: Long-term outcomes of school-based treatment for control of urinary schistosomiasis: a review of experience in Coast Province, Kenya. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **101 Suppl 1**, 299-306.
- King, C. H., E. Muchiri, J. H. Ouma and D. Koech, 1991: Chemotherapy-based control of schistosomiasis haematobia. IV. Impact of repeated annual chemotherapy on prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* infection in an endemic area of Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **45**, 498-508.

- Kirkwood, B. R. and J. A. Sterne, 2003: *Essential medical statistics*. Wiley-Blackwell, Oxford.
- Koukounari, A., A. F. Gabrielli, S. Toure, E. O. Bosque, Y. Zhang, B. Sellin, C. A. Donnelly, A. Fenwick and J. P. Webster, 2007: *Schistosoma haematobium* Infection and Morbidity Before and After Large-Scale Administration of Praziquantel in Burkina Faso. *The Journal of Infectious Diseases*, **196**, 659–669.
- Ladan, M. U., U. Abubakar, K. Abdullah, M. D. A. Bunza and M. J. Ladan, 2012: Urinary schistosomiasis in selected villages around Gusau Dam Site, Zamfara State, Nigeria. *Niger J Basic Appl Sci*, **20**, 189–194.
- Landoure, A., R. Dembele, S. Goita, M. Kane, M. Tuinsma, M. Sacko, E. Toubali, M. D. French, A. D. Keita, A. Fenwick, M. S. Traore and Y. Zhang, 2012: Significantly reduced intensity of infection but persistent prevalence of schistosomiasis in a highly endemic region in Mali after repeated treatment. *PLoS Negl Trop Dis*, **6**, e1774.
- Magnussen, P., 2003: Treatment and re-treatment strategies for schistosomiasis control in different epidemiological settings: a review of 10 years' experiences. *Acta tropica*, **86**, 243-254.
- McManus, D. P. and A. Loukas, 2008: Current status of vaccines for schistosomiasis. *Clinical microbiology reviews*, **21**, 225-242.
- Ndir, O., 2000: Situation des Schistosomoses au Sénégal. In: J. P. Chippaux (ed.), *La lutte contre les Schistosomoses en Afrique de l'Ouest*. IRD, Paris.
- Nkengazong, L., F. Njiokou and T. Asonganyi, 2013: Two years impact of single praziquantel treatment on urinary schistosomiasis in the Barombi Kotto focus, South West Cameroon. *J Parasitol Vect Biol*, **5**, 83–89.
- Plouvier, S., J. C. Leroy and J. Colette, 1975: A propos d'une technique simple de filtration des urines dans le diagnostic de la bilharziose urinaire en enquête de masse. *Med Trop*, **35**, 229–230.
- Poggensee, G., I. Krantz, P. Nordin, S. Mtwewe, B. Ahlberg, G. Mosha and S. Freudenthal, 2005: A six-year follow-up of schoolchildren for urinary and intestinal schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Northern Tanzania. *Acta tropica*, **93**, 131-140.
- Savioli, L., C. Hatz, H. Dixon, U. M. Kisumku and K. E. Mott, 1990: Control of morbidity due to *Schistosoma haematobium* on Pemba Island: egg excretion and hematuria as indicators of infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **43**, 289-295.
- Senghor, B., A. Diallo, S. N. Sylla, S. Doucoure, M. O. Ndiath, L. Gaayeb, F. F. Djuikwo-Teukeng, C. T. Ba and C. Sokhna, 2014a: Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar, region of Fatick, Senegal. *Parasites Vectors*, **7**, 5.
- Senghor, B., O. T. Diaw, S. Doucoure, S. N. Sylla, M. M. Seye, I. Talla, C. T. Bâ, A. Diallo and C. Sokhna, 2014b: Efficacy of Praziquantel Treatment against Urinary Schistosomiasis and its Impact on the Occurrence of Re-infection in School Children in Niakhar, Senegal, a Single Seasonally Transmission Focus. *Plos One*, **In press**.
- Shaw, D. J., J. Vercruysse, M. Picquet, B. Sambou and A. Ly, 1999: The effect of different treatment regimens on the epidemiology of seasonally transmitted *Schistosoma haematobium* infections in four villages in the Senegal River Basin, Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **93**, 142-150.
- Steinmann, P., J. Keiser, R. Bos, M. Tanner and J. Utzinger, 2006: Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *The Lancet. Infectious diseases*, **6**, 411-425.
- Stothard, J. R., H. Ameri, I. S. Khamis, L. Blair, U. S. Nyandindi, R. A. Kane, D. A. Johnston, B. L. Webster and D. Rollinson, 2013: Parasitological and malacological

- surveys reveal urogenital schistosomiasis on Mafia Island, Tanzania to be an imported infection. *Acta tropica*, **128**, 326-333.
- Tchuem Tchuente, L. A., S. C. Momo, J. R. Stothard and D. Rollinson, 2013: Efficacy of praziquantel and reinfection patterns in single and mixed infection foci for intestinal and urogenital schistosomiasis in Cameroon. *Acta tropica*, **128**, 275-283.
- Toure, S., Y. Zhang, E. Bosque-Oliva, C. Ky, A. Ouedraogo, A. Koukounari, A. F. Gabrielli, S. Bertrand, J. P. Webster and A. Fenwick, 2008: Two-year impact of single praziquantel treatment on infection in the national control programme on schistosomiasis in Burkina Faso. *Bulletin of the World Health Organization*, **86**, 780-787, A.
- Ugbomoiko, U. S., I. E. Ofoezie, I. C. Okoye and J. Heukelbach, 2010: Factors associated with urinary schistosomiasis in two peri-urban communities in south-western Nigeria. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **104**, 409-419.
- Verle, P., F. Stelma, P. Desreumaux, A. Dieng, O. Diaw, A. Kongs, M. Niang, S. Sow, I. Talla, R. F. Sturrock and et al., 1994: Preliminary study of urinary schistosomiasis in a village in the delta of the Senegal river basin, Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **88**, 401-405.
- Webster, B. L., O. T. Diaw, M. M. Seye, D. S. Faye, J. R. Stothard, J. C. Sousa-Figueiredo and D. Rollinson, 2013: Praziquantel treatment of school children from single and mixed infection foci of intestinal and urogenital schistosomiasis along the Senegal River Basin: monitoring treatment success and re-infection patterns. *Acta tropica*, **128**, 292-302.
- WHO, 2002: Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis., *Technical report series*. World Health Organisation, Geneva.
- Wilkins, H. A., U. J. Blumenthal, P. Hagan, R. J. Hayes and S. Tulloch, 1987: Resistance to reinfection after treatment of urinary schistosomiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **81**, 29-35.

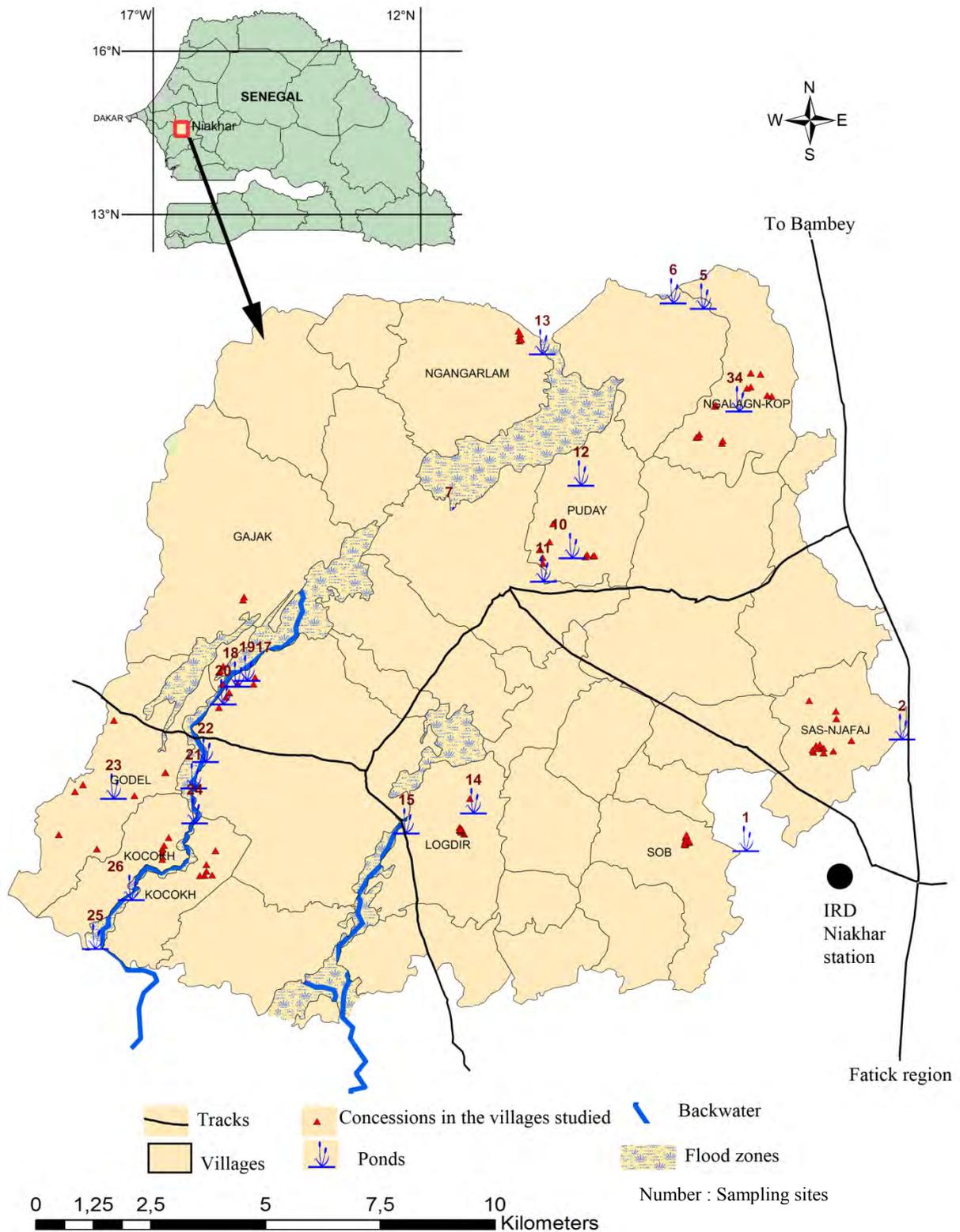


Figure 1: Map of the study area of Niakhar showing the villages studied and the snail sampling sites in the ponds and in the Backwater

Table 1: General characteristics of the study cohort

Attributes		Number	Frequency (%)
sex	Male	304	48.7%
	Female	320	51.3%
Age groups in (years)	5 - 7	180	28.8%
	8 - 11	152	24.3%
	12 - 15	90	14.4%
	16 - 30	109	17.5%
	31 - 60	93	14.9%
Villages (Annotation)	Gajak (V1)	138	22%
	Godel (V2)	69	11%
	Kocokh (V3)	87	14%
	Logdir (V4)	69	11%
	Ngalagne kop (V5)	57	9%
	Ngangarlam (V6)	38	6%
	Puday (V7)	67	11%
	Sass ndiafaj (V8)	53	8%
	Sob (V9)	46	7%

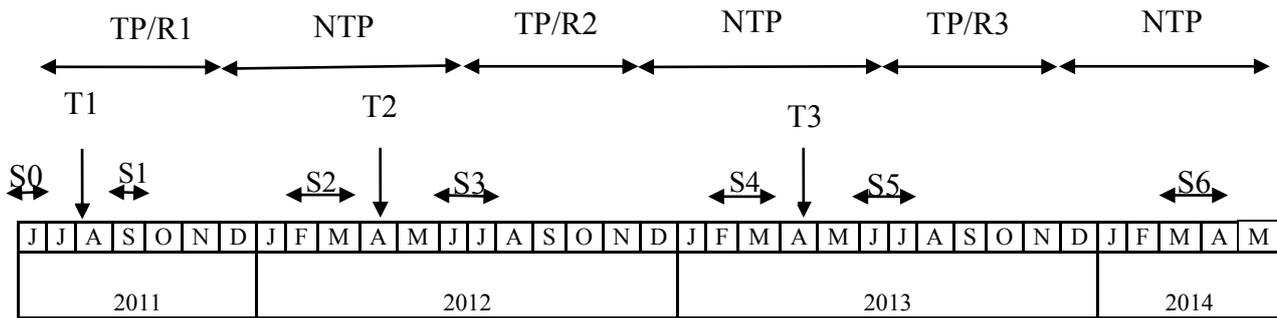


Figure 2: Parasitological survey of the study population (S) and treatment (T)

TP: transmission period corresponding to the water period in water-bodies (July to November) / R: re-infection.

NTP: non transmission period corresponding to the Dry period of water-bodies (December to June).

S0: baseline survey (June 2011)

T1: first treatment; S1: monitoring the efficacy of T1; S2: control of the first re-infection (R1) after T1.

T2: second treatment; S3: monitoring the efficacy of T2; S4: control of second re-infection (R2) after T2.

T3: third treatment; S5: monitoring the efficacy of T3; S6: control of third re-infection (R3) after T3.

Table 2: Baseline infection prevalence and intensity of *S. haematobium* infection in relation to sex and age of the participants

Baseline							
Variables	No. examined	No. infected (%)	CI (95%)	P- value	Light infection (%)	Heavy infection (%)	P-value
Sex							
Female	320	149 (46.6)	41.0 - 52.0		57 (17.8)	92 (28.5)	
male	304	211 (69.4)	64.5 -74.3	$P < 10^{-6}$	20 (6.5)	191 (62.8)	$P < 10^{-4}$
Total	624	360 (57.6)	53.7 - 61.5		77 (12.3)	283 (45.3)	
Age group in years							
5 - 7	180	108 (60)	52.7 – 66.9		20 (11.1)	88 (48.8)	
8 - 11	152	126 (82.9)	76.3 – 88.3		17 (11.2)	109 (71.7)	
12 - 15	90	69 (76.7)	67.1 – 84.5	$P < 10^{-4}$	6 (6.6)	63 (70)	$P < 10^{-4}$
16 - 30	109	34 (31.2)	23.0 – 40.3		15 (13.7)	19 (17.4)	
31 - 60	93	23 (24.7)	17.1 – 34.4		19 (20.4)	4 (4.3)	

Table 3 : Baseline *S. haematobium* infection in all nine village of Niakhar, efficacy of three years treatment of praziquantel, re-infection and new infection levels after treatment

		<i>S. haematobium</i> infection										
Survey (S)	variables	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	Total	P-value
S0	Prevalence P0 in %	68.8	52.2	42.5	49.3	92.9	65.5	62.7	43.4	36.9	57.7	0.003
	(No. infected/examined)	(95/138)	(36/69)	(37/87)	(34/69)	(53/57)	(23/38)	(42/67)	(23/53)	(17/46)	(360/624)	
S1	(CR1 in %)	88/92	35/36	(35/37)	100	96.2	68.1	100	95.6	100	95.2	0.8678
	No. Cured/treated	(95.6)	(97.2)	94.4	(34/34)	(51/53)	(15/22)	(41/41)	(22/23)	(16/16)	(337/354)	
	Prevalence P1 in %	5.1	1.4	2.3	0	8.8	21.5	3	1.9	0	4.2	
(No. infected/examined)	(7/138)	(1/69)	(2/87)	(0/69)	(5/57)	(8/38)	(2/67)	(1/53)	(0/46)	(26/624)		
S2	Prevalence P2 in %	11.1	2.8	0	4.3	17.8	29.7	20.9	1.9	6.6	9.5	0.4032
	(No. infected/examined)	(15/135)	(2/69)	(0/87)	(3/69)	(10/56)	(11/37)	(14/67)	(1/53)	(3/45)	(59/618)	
	R1 in %	6.8	1.5	0	4.3	11.5	33.3	20	0	6.5	6.3	
(No. reinfected/examined)	(9/131)	(1/68)	(0/85)	(3/69)	(6/52)	(10/30)	(13/65)	(0/52)	(3/46)	(38/598)		
S3	CR2 in %	100	100	0	100	90	90.9	100	100	100	96.6	0.0913
	(No. Cured/treated)	(15/15)	(2/2)	0	(3/3)	(9/10)	(10/11)	(14/14)	(1/1)	(3/3)	(57/59)	
	Prevalence P3 %	0	0	0	0	1.8	2.7	0	0	0	0.3	
(No. infected/examined)	(0/135)	(0/69)	(0/87)	(0/69)	(1/56)	(1/37)	(0/67)	(0/53)	(0/45)	(2/ 618)		
S4	Prevalence P4 in %	8.9	10.1	0	2.9	7.1	35.1	33.3	0	20.4	11.2	0.8283
	(No. infected/examined)	(12/134)	(7/69)	(0/86)	(2/68)	(4/56)	(13/37)	(22/66)	(0/53)	(9/45)	(69/613)	
	R2 in %	6.8	10.1	0	2.9	5.4	33.3	32.3	0	20.4	10.8	
(No. reinfected/examined)	(12/134)	(7/69)	(0/50)	(2/68)	(3/55)	(12/36)	(21/65)	(0/53)	(9/44)	(66/610)		
S5	No. cured CR3 in %	91.6	100	0	100	100	76.9	95.4	0	88.8	91.3	0.0340
	(No. Cured/treated)	(11/12)	(7/7)	0	(2/2)	(4/4)	(10/13)	(21/22)	0	(8/9)	(63/69)	
	Prevalence P5 in %	0.6	0	0	0	0	5.4	1.5	0	2.3	0.9	
(No. infected/examined)	(1/134)	(0/69)	(0/86)	(0/68)	(0/56)	(2/37)	(1/66)	(0/53)	(1/44)	(6/613)		
S6	Prevalence P6 in %	14.9	2.9	0	14.7	3.6	24.3	15.4	13.2	2.3	10.1	0.0031
	(No. infected/examined)	(20/134)	(2/69)	(0/86)	(10/68)	(2/56)	(9/37)	(10/65)	(7/5)	(2/44)	(62/612)	
	R3 in %	15	2.9	0	14.7	3.6	25.7	15.4	13.2	4.6	10.2	
(No. reinfected/examined)	(20/133)	(2/69)	(0/86)	(10/68)	(2/56)	(9/35)	(10/65)	(7/53)	(2/43)	(62/607)		

Table 4: Heavy intensity infection reduction of *S. haematobium* in all nine villages of Niakhar after each PZQ treatment from 2011 to 2013

Surveys (S)	Characteristics	<i>S. haematobium</i> infection									Total
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	
S0	Any intensity infections (%)	95/138 (68.8)	36/69 (52.2)	37/87 (42.5)	34/69 (49.3)	53/57 (92.9)	23/38 (65.5)	42/67 (62.7)	23/53 (43.4)	17/46 (36.9)	360/624 (57.7)
	Heavy intensity infection (%)	69 (50)	23 (33.3)	26 (29.8)	24 (34.8)	53 (92.9)	22 (57.9)	35 (52.2)	21 (39.6)	10 (20.4)	283 (45.3)
S1	Any intensity infections (%)	7/138 (5.1)	1/69 (1.4)	2/87 (2.3)	0/69	5/57 (8.8)	8/38 (21.5)	2/67 (3)	1/53 (1.9)	0/46	26/624 (4.2)
	Heavy intensity infection (%)	5 (3.6)	0	2 (2.3)	0	4 (7)	5 (13.1)	0	0	0	16 (2.3)
S2	Any intensity infections (%)	15/135 (11.1)	2/69 (2.8)	0/87	3/69 (4.3)	10/56 (17.8)	11/37 (29.7)	14/67 (20.9)	1/53 (1.9)	3/45 (6.6)	59/618 (9.5)
	Heavy intensity infection (%)	13 (9.6)	1 (1.4)	0	2 (2.9)	3 (5.3)	7 (18.9)	6 (8.9)	1 (1.9)	3 (6.6)	36 (5.8)
S3	Any intensity infections (%)	0/135	0/69	0/87	0/69	1/56 (1.8)	1/37 (2.7)	0/67	0/53	0/45	2/ 618 (0.3)
	Heavy intensity infection (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S4	Any intensity infections (%)	12/134 (8.9)	7/69 (10.1)	0/86	2/68 (2.9)	4/56 (7.1)	13/37 (35.1)	22/66 (33.3)	0/53	9/45 (20)	69/613 (11.2)
	Heavy intensity infection (%)	9 (6.7)	5 (7.2)	0	1 (1.5)	2 (2.5)	10 (27.2)	12 (27.1)	0	3 (6.8)	42 (6.8)
S5	Any intensity infections (%)	1/134 (0.7)	0/69	0/86	0/68	0/56	2/37 (5.4)	1/66 (1.5)	0/53	1/44 (2.3)	6/613 (0.9)
	Heavy intensity infection (%)	1 (0.7)	0	0	0	0	2 (8.1)	0	0	0	4 (0.6)
S6	Any intensity infections (%)	20/134 (14.9)	2/69 (2.9)	0/86	10/68 (14.7)	2/56 (3.6)	9/37 (24.3)	10/65 (15.4)	7/53 (13.2)	2/44 (2.3)	62/612 (10.1)
	Heavy intensity infection (%)	14 (10.4)	1 (1.4)	0	6 (8.8)	0	6 (16.2)	8 (12.1)	5 (9.4)	1 (2.3)	41 (6.7)

Table 5: Global results of the malacological survey in water bodies from 2011 to 2013 in the nine villages targeted in the Niakhar study area

Snail Survey	Infestation rates	Villages									Total
		V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	
T1 (August 2011); transmission period June to November 2011											
September - December 2011	No. Snails tested	186	33	0	56	127	53	34	25	16	530
	No. Snails infested (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T2 (April 2012); December 2011 to July 2011 (water bodies are dry)											
July - December 2012	No. Snails tested	280	64	0	80	156	224	111	20	44	979
	No. Snails infested (%)	0	0	0	0	0	8 (3.5)	0	0	0	8 (0.8)
T3 (May 2013); December 2012 to July 2013 (water bodies are dry)											
July - December 2013	No. Snails tested	750	270	0	90	714	544	1920	819	330	5439
	No. Snails infested (%)	5 (0.67)	0	0	1 (1.1)	0	14 (2.6)	1 (0.05)	5 (0.6)	0	26 (0.5)
Total	No. Snails tested	1216	367	0	226	997	821	2065	864	390	6948
	No. Snails infested (%)	5 (0.41%)	0	0	1 (0.44%)	0	22 (2.68%)	1 (0.048%)	5 (0.58%)	0	34 (0.49%)

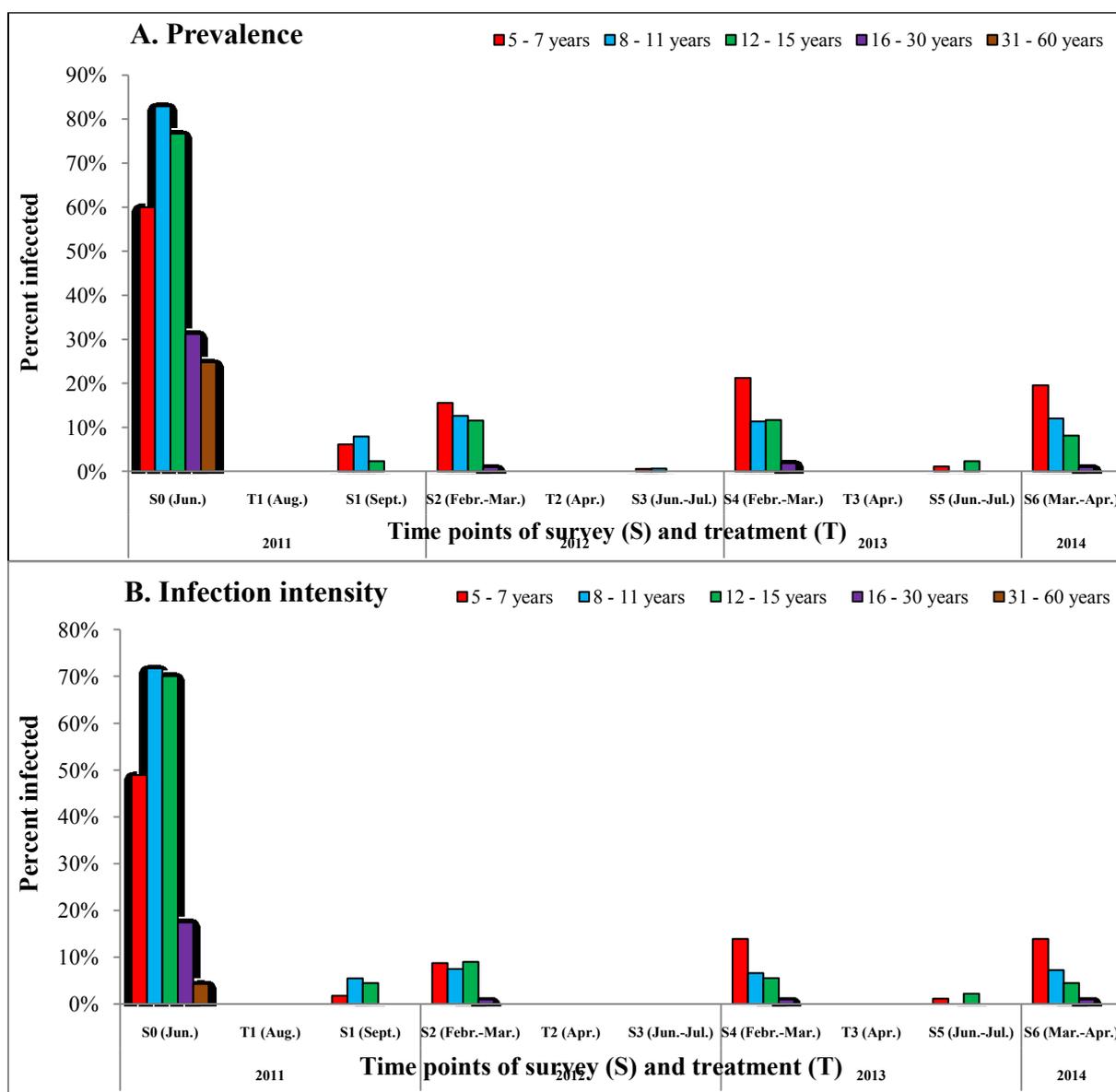


Figure 3: Graphical representation of variation in prevalence (A) and heavy infection intensity (B) of *S. haematobium* after each treatment and re-infection between age groups in the villages studied from 2011 to 2014.

T1, T2 and T3 indicate the three treatment of PZQ 40 mg/kg.

S0 indicates the baseline survey

S1, S3 and S5 indicate the time points of treatments efficacy monitoring (T1, T2 and T3, respectively)

S2, S4 and S6 indicate the time points of re-infections control (R1, R2 and R3, respectively)

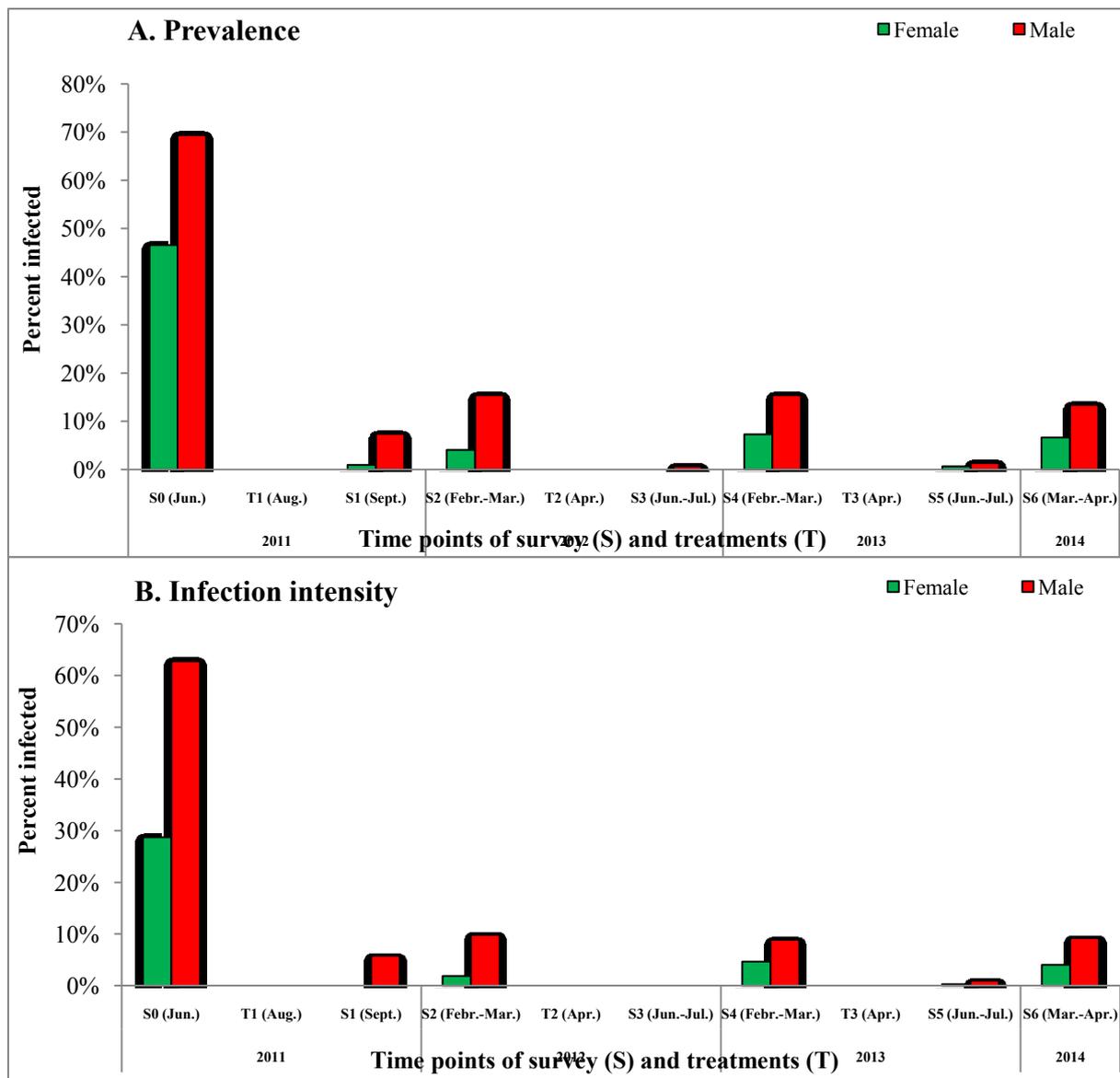


Figure 4: Graphical representation of variation in prevalence (A) and heavy infection intensity (B) of *S. haematobium* after each treatment and re-infection between sexes in the villages studied from 2011 to 2014.

T1, T2 and T3 indicate the three treatment of PZQ 40 mg/kg.

S0 indicates the baseline survey

S1, S3 and S5 indicate the time points of treatments efficacy monitoring (T1, T2 and T3, respectively)

S2, S4 and S6 indicate the time points of re-infections control (R1, R2 and R3, respectively)

II.4. DISCUSSION

II.4. DISCUSSION

Nos travaux ont porté sur la dynamique de la transmission de la schistosomiase urinaire dans un foyer saisonnier en vue d'une proposition de stratégies de contrôle efficace et adapté à long terme dans ces types d'écosystèmes temporaires au Sénégal. Pour cela, nous avons étudié la prévalence et l'intensité de l'infection pour recommander des traitements répétés au praziquantel. De même que, l'impact d'une dose de praziquantel sur la prévalence et l'intensité de l'infection ainsi que sur la survenue de la ré-infection. Afin de comprendre le fonctionnement de ce foyer, nous avons étudié la systématique et la dynamique des mollusques hôtes intermédiaires. Cette étude a été l'occasion de signaler pour la première fois *B. umblicatus* dans la zone écologique du Sine-Saloum mais aussi de découvrir que ce bulin peut garder son infestation d'une saison à une autre, pouvant augmenter ainsi la période de transmission dans ces foyers à 5 mois, c'est à dire de Juillet à Novembre. Nos travaux ont également combiné la dynamique de l'infection chez les populations humaines et chez les mollusques hôtes intermédiaires après trois traitements répétés pendant 3 ans.

1. Prévalence et intensité de l'infection à *S. haematobium* à Niakhar avant traitement

Des travaux antérieurs ont montré que la prévalence et l'intensité de l'infection sont élevées chez les enfants et non négligeables chez les adultes dans les zones où les traitements par le praziquantel sont rares ou inexistantes. La plupart de ces travaux ont été réalisés dans les villages en bordure des fleuves, des rivières, des lacs, des grands aménagements hydro-agricoles (King *et al.*, 1991, De Clercq *et al.*, 2000, Koukounari *et al.*, 2007, Ladan *et al.*, 2012). Dans le Nord du Sénégal, ces travaux ont souvent porté sur des populations riveraines des canaux d'irrigation, à Richard Toll, du Lac de Guiers, de la moyenne et haute vallées du fleuve Sénégal près de Podor, à Lampsar, Guédé Chantier, à Mbodiène etc. où les contacts homme-eau sont permanents (Vercruyse *et al.*, 1985, Gaye *et al.*, 1991, Verle *et al.*, 1994, Picquet *et al.*, 1996, Shaw *et al.*, 1999, Sturrock *et al.*, 2001, Ndir *et al.*, 2010, Webster *et al.*, 2013). Certains de ces travaux ont évalué l'efficacité d'un ou de plusieurs traitements et la ré-infection sur une ou deux années (Verle *et al.*, 1994, De Clercq *et al.*, 1999, De Clercq *et al.*, 2000, De Clercq *et al.*, 2002, Webster *et al.*, 2013). Les résultats ont montré une bonne efficacité du praziquantel sur *S. haematobium* mais la ré-infection survient de façon rapide et est très importante. Dans le sud du pays, à Kedougou ces travaux ont porté sur des villages à proximité des rivières pérennes, issues des sources naturelles de la région (Sy *et al.*, 2008). Ils ont aussi démontré un impact positif des traitements de masse mais les prévalences restent

toujours élevées dans certains villages surtout chez les plus jeunes enfants (Ndao *et al.*, 2014). A notre connaissance, dans les zones à transmission strictement saisonnière, notamment dans les régions situées au centre du pays, peu d'études ont été réalisées sur la prévalence et l'intensité de l'infection et ont concerné seulement les enfants en âge scolaire (Ndir, 2000, Akiana, 2003, Seck *et al.*, 2007). Les études réalisées dans ce travail sont l'une des rares où même les premières recherches épidémiologiques (alliant parasitologie et malacologie) à avoir comme cadre d'étude une zone à transmission strictement saisonnière. L'intérêt et la pertinence de nos travaux se situe à plusieurs niveaux. Ces études sont les premières à avoir comme cadre d'étude une zone avec des populations ne fréquentant que des mares et un marigot temporaires (Zone d'étude de Niakhar). Elles ont tenu compte des facteurs tels que l'hétérogénéité de l'âge de la population, de la localisation des villages, le type de point d'eau utilisé et l'accès à l'assainissement. Elles ont révélé et confirmé l'endémicité de la schistosomiase urinaire dans la zone d'étude de Niakhar. L'originalité de notre approche était d'évaluer pour la première fois au Sénégal l'efficacité de trois traitements répétés au Praziquantel sur la schistosomiase urinaire dans un foyer à transmission saisonnière de *S. haematobium* et également de combiner pendant ces trois années, la dynamique de la transmission chez les populations humaines et les mollusques hôtes intermédiaires. Cette combinaison de la parasitologie et de la malacologie nous a permis de mieux comprendre le fonctionnement de ces foyers et de proposer de nouvelles stratégies de lutte adaptées contre la schistosomiase urinaire dans les foyers saisonniers au Sénégal.

Dans nos trois études sur les populations humaines, nous avons pu mettre en évidence de fortes prévalences dans les villages en 2010 et 2011 avant traitements.

La première étude a montré une prévalence de 57,6% et une intensité de l'infestation élevée 185 œufs/10 ml d'urine chez les enfants en âge scolaire de 7 à 15 recrutés directement dans les établissements scolaires en 2010. En 2011 la deuxième étude de baseline a aussi porté sur des enfants en âge scolaire de 5 à 15 ans mais recrutés dans leurs villages. Elle a révélé une augmentation de la prévalence à 73,2% et de l'intensité de l'infection à 356,1 œufs/10 ml d'urine. La troisième étude a porté sur la population globale composée d'enfants et d'adultes de 5 à 60 ans. Elle a encore confirmé ce niveau d'endémicité en rapportant une prévalence de 57,7% et 45,3% de fortes infections.

Les différences des prévalences chez les enfants en 2010 et 2011 sont certainement dues au fait que l'étude de 2011 était très sélective. Elle n'a concerné que les enfants recrutés dans les hameaux les plus proches des sites de transmission et qui restent dans les villages pendant l'hivernage. Ces derniers sont plus en contact avec les points d'eau et donc plus à

risque de l'infection. Cela pourrait aussi être dû au groupe d'âge de 5 à 7 ans que nous avons inclus dans cette étude car la prévalence chez ces enfants était aussi importante. En général, nous n'avons pas observé de grande différence de l'infection chez ces enfants en âge scolaire entre 2010 et 2011 avant traitement. La concentration de la schistosomiase dans cette catégorie de la population est bien connue et a été prouvée dans plusieurs études (Wilkins *et al.*, 1987, Verle *et al.*, 1994, De Clercq *et al.*, 2000). La prévalence chez les enfants en âge scolaire de 7 à 15 ans en 2010 est sensiblement la même que celle trouvée dans la population globale en 2011. Cela montre l'intérêt de cette classe d'âge dans l'évaluation de l'endémicité de la schistosomiase dans une communauté. Nos résultats ont montré des prévalences avant traitement assez importantes dans le groupe des adultes en particulier les femmes qui sont très souvent en contact avec les eaux infestées lors du puisage de l'eau pour la lessive et pour d'autres activités ménagères. Les hommes adultes de plus de 30 ans n'ont pas été trouvés infectés durant toute l'étude. Cette distribution de l'infection à *S. haematobium* selon l'âge a été rapportée dans des études antérieures en Afrique chez des enfants et des adultes (Wilkins *et al.*, 1987, De Clercq *et al.*, 1994, De Clercq *et al.*, 1999, King *et al.*, 2006). Ces résultats sont en accord avec nos données montrant que la prévalence et l'intensité de l'infection de *S. haematobium* sont élevées chez les enfants âgés de 7 à 15 ans dans le district de Niakhar (Senghor *et al.*, 2014a). La différence entre les enfants et les adultes dans la zone d'étude de Niakhar pourrait s'expliquer par les différences de contact avec l'eau qui sont très fréquents chez les jeunes alors que chez les adultes en particulier les hommes, les contacts sont très faibles et même inexistant. De plus, les points d'eau de la zone d'étude de Niakhar ne sont pas utilisés pour des activités agricoles ce qui fait que les personnes adultes en particulier les hommes ne sont pas très exposés. Mais selon les études antérieures, cette différence pourrait être due au fait qu'une faible proportion des œufs atteint l'extérieur chez les sujets adultes en raison de la fibrose de la paroi vésicale (Wilkins *et al.*, 1987). D'autres études réalisées dans une même zone à transmission saisonnière en Gambie ont montré que les enfants étaient plus susceptibles à l'infection par *S. haematobium* comparés aux adultes (Wilkins *et al.*, 1984, Wilkins *et al.*, 1987).

Dans toutes les études de baseline, les prévalences et l'intensité de l'infection étaient toujours significativement plus élevées chez les enfants de sexe masculin que chez ceux de sexe féminin. La différence notée dans la zone de Niakhar peut être due à des facteurs culturels, comportementaux et sociaux. En effet, pendant la saison des pluies, les garçons sont responsables de la garde du bétail. Ils participent ainsi à diverses activités, comme la natation, les baignades, le lavage des animaux domestiques et la pêche, ce qui les amène à être très

souvent en contacts fréquents et prolongés avec les points d'eau. En revanche, les filles ne sont en contact avec l'eau des mares que lors de baignades à l'occasion de la lessive ou du puisage de l'eau pour des travaux domestiques. En plus, dans certains villages disposant de bornes fontaines publiques, les filles restent le plus souvent à la maison et utilisent l'eau du robinet pour les travaux ménagers, réduisant ainsi leur contact avec les sites de transmission. Les garçons constituent donc un groupe à haut risque pour la schistosomiase urinaire à Niakhar car ils sont significativement plus infestés que les filles tous âges confondus. Cette observation est en accord avec les études antérieures portant sur les mêmes paramètres au Sénégal (Gaye *et al.*, 1991, Thiam, 1993) et dans d'autres localités différentes en Afrique (Ugbomoiko *et al.*, 2010, Ahmed *et al.*, 2012). Toutefois, ces résultats ne sont pas en accord avec d'autres études réalisées à Mbodiène au Sénégal (Verle *et al.*, 1994) et au Mali (Dabo *et al.*, 2011) où les auteurs n'ont pas noté de différences de l'infection entre les deux sexes. Les femmes adultes sont plus infestées que les hommes du fait des activités telles que la lessive qui les oblige à être souvent en contact avec l'eau du marigot et des mares infestées.

Des différences de prévalence ont aussi été notées entre les villages. En 2010, les prévalences étaient plus élevées dans les villages de Godel, Gajak et Kocokh qui utilisaient le marigot comme principale source d'eau pendant la saison des pluies. La forte prévalence dans ces villages reflète le niveau élevé d'exposition et de la dépendance de ces habitants par rapport au marigot, qui persiste pendant la saison sèche jusqu'à Décembre voire même Janvier dans le village de Kocokh au Sud. Des années avant la première étude, l'eau du marigot était douce à hauteur de ce village et de celui de Godel. Les habitants l'utilisaient pour la boisson, le maraichage et divers activités domestiques. En plus ce sont des villages qui n'ont pas accès à l'eau du robinet (Levi & Adyamagbo, 2003). La faible prévalence observée dans les autres villages pourrait être due au fait qu'ils dépendent des mares dont la plupart s'assèchent dès novembre. Ce sont également des villages avec accès à l'eau de robinet. Cette observation est en accord avec les travaux réalisés au Nigéria sur des villages aux alentours du barrage de Gusau où la variabilité de l'épidémiologie de la schistosomiase était imputable à des différences de contact avec l'eau (Ladan *et al.*, 2012). Il est également similaire à d'autres observations qui ont montré dans le Sud-ouest, du Cameroun au niveau du Lac Baromi - Kotto que les villages qui n'ont pas accès à l'eau de robinet avaient un niveau élevé de l'infection (Nkengazong *et al.*, 2013). Toutefois, il est bon de noter qu'à Niakhar, dans certains villages qui ont aussi accès à l'eau courante, les prévalences sont également élevées. Cette situation peut s'expliquer par d'autres facteurs tels que la grande proximité avec les mares, le manque d'éducation pour la santé et une mauvaise hygiène.

L'absence de traitements de masse dans la zone fait qu'en 2011, les prévalences et les intensités de l'infection sont restées toujours élevées comme le montrent les résultats des suivis de baseline dans les différentes études. Mais le village de Kocokh qui est traversé par le marigot et qui avait la plus forte prévalence en 2010 s'est retrouvé avec l'une des prévalences les plus faibles en 2011. Cette baisse pourrait s'expliquer par l'écologie du marigot dans ce village. En effet, la partie du marigot qui traverse le village est affectée par une remontée de la langue salée venant du Sud de la zone. Cette salinité de l'eau a certainement rendu impossible le développement de mollusques hôtes intermédiaires de *S. haematobium*. En effet, la salinité élevée a une action néfaste sur la vie des bulins (Diaw *et al.*, 1999). A cela s'ajoute le fait que tous les enfants de l'école du village qui avaient déclaré avoir des urines rouges en 2010 avaient reçu un traitement à la fin de la première étude. Par contre, dans le village de Gajak qui est aussi traversé par le marigot, l'eau n'est pas encore complètement gagnée par cette salinité. Néanmoins, une diminution de la prévalence a été notée en 2011 par rapport à 2010 mais le pourcentage de sujets infectés est encore élevé. Cela est due au fait que les bulins peuvent encore se développer dans cette partie du marigot et continuer ainsi de jouer leur rôle d'hôtes intermédiaires. Cependant, ces dernières années vers la fin de la saison des pluies, on peut observer des cristaux de sel sur les rebords du marigot. Cette évolution de l'écologie du marigot a fait qu'en 2011, les plus fortes prévalences étaient enregistrées dans les villages ayant un nombre important de mares qui sont proches des concessions à l'image de ceux de Ngalagne Kop et Poudaye. Toutefois, des faibles prévalences ont toujours été notées dans les villages de Sass et Sob qui ont un petit nombre de mare et un accès à l'eau de robinet même à l'intérieur des concessions.

Ces résultats sur les prévalences de 2011 confirment cette hétérogénéité de la transmission entre les villages. La répartition des mares et des marigots peut donc entraîner une hétérogénéité de la prévalence et l'intensité de l'infection à *S. haematobium* dans l'ensemble de la zone d'étude. Par conséquent, les résultats de cette étude indiquent une fois de plus l'importance des systèmes de mares et marigots temporaires dans l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire en accord avec les travaux réalisés en Gambie et au Sénégal sur des mares temporaires de (Goll *et al.*, 1984, Diaw *et al.*, 1989).

A travers ces études de baseline, nous avons montré que les populations de la zone continueraient d'être infectées et réinfectées si aucune stratégie d'intervention n'est mise en œuvre.

2. Impact des traitements répétés sur la dynamique de la transmission saisonnière de *S. haematobium* à Niakhar

Avant l'avènement des traitements de masse, nous avons administré à la cohorte un premier traitement au mois d'Août en plein saison de transmission. L'efficacité de ce traitement a été évaluée dans la seconde étude chez les enfants de 5 à 15 ans et dans la troisième étude au niveau de l'ensemble de la cohorte.

Ces études ont montré qu'un seul traitement au praziquantel réduit de manière significative la prévalence et l'intensité infection chez les enfants en âge scolaire de 5 -15 ans et guérit complètement toutes les personnes adultes de plus de 16 ans dans tous les villages investigués de la zone d'étude. Des résultats similaires ont été aussi obtenus au Kenya (King *et al.*, 1991) et au Sénégal (De Clercq *et al.*, 1999) sur des populations de 1 à plus de 24 ans et 1 à plus de 40 ans respectivement où des baisses significatives ont été noté chez les sujets de moins de 15 ans. Cependant dans ces précédentes études, les prévalences ne sont pas nulles chez les sujets de plus 15 ans. Dans la présente étude, les fortes intensités de l'infection ont été pratiquement éliminées permettant déjà d'atteindre l'objectif du programme national de lutte contre la schistosomiase au Sénégal qui est de réduire la morbidité liée aux fortes charges ovulaires. Ces résultats montrent ainsi l'efficacité du praziquantel dans le foyer saisonnier de Niakhar. Un impact similaire d'un seul traitement a été observée dans deux villages (Diatar et Guia) utilisant un canal d'irrigation dans le bassin du fleuve Sénégal (Shaw *et al.*, 1999), mais aussi au Burkina Faso après l'administration à grande échelle de praziquantel (Koukounari *et al.*, 2007). Les taux de guérison et de réduction du nombre d'œufs dans la présente étude étaient plus élevés que ceux observés dans les études antérieures menées en Gambie dans un même type de foyer saisonnier de *S. haematobium* (Wilkins *et al.*, 1987). Ces taux sont également supérieurs a ceux rapportés, 5 à 6 semaines après une dose de praziquantel dans des villages à transmission simple et/ou mixte et permanente de *S. haematobium* situés le long de la rivière Lampsar (Sénégal), de la moyenne vallée du fleuve Sénégal mais aussi au niveau du Lacs de Guiers (Shaw *et al.*, 1999, De Clercq *et al.*, 2000, Webster *et al.*, 2013).

Le taux de guérison le plus bas observé dans le village de Ngangarlam (68,1%) serait dû à une différence de période de transmission dans ce village par rapport aux autres. En effet, c'est seulement dans la mare fréquentée par les populations de ce village où nous avons trouvé des mollusques infectés dès le mois de Juillet en 2012 et 2013. Ce qui montre qu'entre le mois Juillet et d'Août 2011 où nous avons fait le premier traitement, certains enfants étaient

probablement déjà infectés par des jeunes schistosomes. Comme le praziquantel n'est pas efficace contre les formes immatures de *S. haematobium* (Magnussen, 2003) ; au mois de septembre 2011 où nous avons contrôlé l'efficacité du traitement, ces stades immatures de schistosomes seraient devenus adultes et auraient commencé à produire des œufs qui pouvaient être détectés dans les urines. C'est à travers le calendrier de l'étude que ce traitement a été effectué dans la période de transmission en 2011. Mais son efficacité n'a pas été affectée par la ré-infection dans d'autres villages où la transmission commence en Septembre.

Le meilleur moment de traitement dans ces foyers se situe donc dans la période de non transmission quand tous les points d'eau sont à sec et que les nouveaux vers soient devenus adultes pour pouvoir être atteints par le traitement : soit 2 à 3 mois avant la mise en eau des mares. L'administration et le contrôle des deux derniers traitements ont donc été effectués dans les périodes de non transmission entre Mars et Juin en 2012 et 2013. Tous les vers étaient matures en ce moment et ont été exposés au praziquantel. Après chacun de ces deux traitements, la schistosomiase était éliminée dans 7 et 5 villages de la cohorte en 2012 et 2013 respectivement. Dans les autres villages, seulement 1 ou 2 sujets ont continué d'excréter un très faible nombre d'œufs. Mais cet impact élevé du deuxième traitement peut être dû au petit nombre de sujets infectés qui a été traité en raison des faibles niveaux de ré-infection attribués à la particularité de ces écosystèmes avec une transmission saisonnière. Un tel effet d'un deuxième traitement a été notée dans deux villages à transmission continue : Temeye, situé au niveau du Lac de Guiers où *S. haematobium* coexiste avec *S. mansoni* et Guia localisé au niveau de la moyenne vallée du Fleuve Sénégal où seul *S. haematobium* existe et les populations utilisent un canal d'irrigation qui s'assèche en 2 mois. Mais pendant cette période d'assèchement, les habitants de ce village utilisent l'eau du fleuve Sénégal pour leurs activités. Après la deuxième dose de Praziquantel administré 6 semaines après la première, les prévalences de *S. haematobium* étaient nulles dans ces deux villages (Webster *et al.*, 2013).

En 2013, le troisième traitement a été réalisé comme le précédent et avait également montré un effet similaire sur l'infection à *S. haematobium*. Les résultats de notre étude montrent l'intérêt des traitements répétés et prouvent qu'il est possible de réduire fortement la schistosomiase urinaire dans les foyers à transmission saisonnière de *S. haematobium* au Sénégal.

Dans chaque village, aucune différence d'efficacité du Praziquantel sur la réduction de la prévalence et de l'intensité de l'infection n'a été notée entre les trois traitements. Cela pourrait s'expliquer par l'effet du premier traitement, dont l'impact sur l'infection s'est fait

sentir sur les deux années suivantes avec un faible nombre de sujets réinfectés après chaque cycle de la transmission. Un tel impact à long terme d'un traitement unique de praziquantel sur l'infection à *S. haematobium* a été rapporté pendant une période de deux, trois et même six ans après traitement par des études antérieures menées respectivement en Tanzanie (Poggensee *et al.*, 2005), au Niger (Garba *et al.*, 2004) et au Mali (Toure *et al.*, 2008). Il a également été démontré qu'une dose unique de Praziquantel semble avoir un effet durable sur la morbidité au niveau individuel pendant deux à quatre ans dans les zones de transmission modérée (Magnussen, 2003) et même dans celles de forte transmission (Guidi *et al.*, 2010).

3. La dynamique des ré-infections de *S. haematobium* dans le foyer temporaire de Niakhar.

Tout le long du suivi parasitologique pendant les 3 cycles de la transmission, les ré-infections étaient très faibles par rapport à la prévalence avant intervention. Sauf dans le village de Kocokh, où aucune ré-infection n'a été détectée dès le premier traitement, la ré-infection a légèrement varié d'une année à l'autre au sein de chaque village et entre eux. Notre cartographie des concessions suivies dans chaque village a montré une hétérogénéité dans la proximité avec les mares et le marigot comme indiqué sur la figure 1. L'enquête malacologique parallèle dans les sites de transmission a également montré des différences dans l'abondance relative et la dynamique de l'infestation des mollusques hôtes intermédiaires d'une année à l'autre au sein d'un village et entre les villages.

En 2011, nous n'avons pas noté de différence significative de la réinfection entre les villages. Dans les villages V1, V2, V4, V5, V8 et V9, de faibles changements dans la prévalence entre S1 et S2 ont été notés probablement dues à un niveau faible de transmission similaire dans les différents points d'eau de ces villages mais aussi et surtout à l'effet du premier traitement. Par contre, dans les villages V6 et V7, les taux de la ré-infection R1 étaient assez importants. Cela est dû à une différence de la transmission qui semble être plus dynamique dans ces deux villages. En effet, dans le village V6, la présence de mollusques infestés dès le mois de Juillet dans la mare du village montre que la transmission est précoce et plus longue que dans les autres villages. En plus, c'est un des villages qui n'ont pas accès à l'eau potable. Dans le village V7, par contre le taux de la ré-infection R1 pourrait s'expliquer par la présence des nombreuses mares à proximité des concessions (moins de 50 m) et qui sont très utilisées par les femmes pour la lessive et les enfants pour les baignades en général. En plus, c'est dans les mares de ce village que les densités de mollusques sont plus

importantes augmentant ainsi le potentiel et le risque de transmission. L'absence de ré-infection dans le village V3 est probablement due à la caractéristique écologique des sites du marigot dans ce village. En effet, la salinité de l'eau ne permet pas le développement des mollusques hôtes intermédiaires de la schistosomiase, tandis que dans le village V8, l'absence de ré-infection pourrait s'expliquer par un niveau de transmission faible. En effet, seule une mare assez éloignée des concessions est utilisée par les populations. En plus la prévalence et l'intensité de l'infection les plus faibles à la baseline ont été notées dans ce village. C'est également un village où la plupart des concessions ont des robinets.

En Avril 2012, tous les enfants en âge scolaire de notre cohorte ont reçu un deuxième traitement. Les autres enfants non enrôlés dans le suivi ont aussi été traités lors du premier passage de la campagne de distribution en masse du Praziquantel dans le district de Niakhar. Ce deuxième traitement a été donné et contrôlé dans la période de non transmission de l'année 2012. Après cette deuxième administration de PZQ, les taux de la ré-infection R2 sont à nouveau plus importants dans les villages V6 et V7 que dans les autres villages. Ces différences entre les villages peuvent être expliquées par les mêmes facteurs mentionnés ci-dessus. Les faibles taux de ré-infection dans les 7 autres villages seraient dus aux effets combinés des deux traitements au niveau de la cohorte et également à l'effet du premier traitement de masse des enfants en âge scolaire. En effet ces traitements ont considérablement réduit le nombre d'œufs chez les enfants et par conséquent, la contamination des sites de transmission. Ces effets combinés des ces traitements ont permis de guérir un grand nombre d'enfants infectés et donc une diminution de la contamination des mollusques dans les sites de transmission.

En 2013, le suivi était réalisé comme le précédent. Le troisième traitement et le contrôle ont été faits dans la période de non transmission. Les pluies étaient plus abondantes et les points d'eau plus fréquentés. Les densités de mollusques étaient également importantes. Malgré toutes ces conditions favorables à la transmission, nous avons à nouveau noté de faibles ré-infections mais qui diffèrent toujours entre les villages.

Un fait intéressant a été noté dans les villages V6 et V7 où la transmission était très dynamique les deux précédentes années. En effet, après le troisième traitement de la cohorte qui a coïncidé avec le deuxième passage de l'administration en masse du Praziquantel, les niveaux de la ré-infection R3 en 2013 étaient plus faibles que ceux des deux années précédentes. La différence était significative dans le village V6. Cette diminution de la ré-infection dans ces villages peut être expliquée à nouveau par les effets des trois traitements de la cohorte mais surtout par ceux des deux traitements de masse de 2012 et 2013. En effet

ces traitements ont d'avantage entraîné une réduction de l'excrétion d'œufs de *S. haematobium* viables dans l'environnement, diminuant ainsi l'infestation des mollusques dans les points d'eau (Wilkins, 1989, Stothard *et al.*, 2013). Cet impact des traitements répétés a été bien ressenti dans le village V6 où nous avons une réduction significative de la ré-infection entre 2012 et 2013. Cette réduction est en phase avec la baisse significative de 2012 à 2013 notée sur les taux d'infestations par *S. haematobium* de *B. umbilicatus*, hôte intermédiaire dans ce village.

Un autre fait aussi intéressant a été noté dans la plupart des autres villages où les deux ré-infections précédentes étaient très faibles. En effet, la réinfection de 2013 était plus importante que celles de 2011 et 2012 au niveau des villages V1, V4 et V8. Cela pourrait s'expliquer par la forte pluviométrie enregistrée dans la zone en 2013 qui a fait que certains points d'eau sont restés plus longtemps avec des fréquentations humaines importantes et des densités élevées de mollusques. Ces conditions ont favorisé l'infestation de *B. senegalensis* en 2013 et par conséquent la ré-infection des populations dans ces villages. L'augmentation de la ré-infection en 2013 notées au niveau de certains villages pourrait être due au fait que certains enfants de la zone qui sont aussi infectés qui n'ont pas été traités lors des campagnes de traitement de masse sont susceptibles d'être la source de la nouvelle contamination des bulins hôtes intermédiaires du parasite dans les sites de transmission. Comme les contacts homme-eau se poursuivent dans les mares et le marigot probablement infestés de cercaires de *S. haematobium* émis par ces mollusques, les ré-infections peuvent toujours avoir lieu (Stothard *et al.*, 2013). Cette dernière ré-infection montre que la contamination des points d'eau avec des œufs viables de *S. haematobium* est toujours en cours. Ces résultats montrent l'importance de combiner la parasitologie et la malacologie pour une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la schistosomiase.

Globalement, les ré-infections notées dans les villages étudiés après chaque traitement sont très faibles par rapport à la situation avant traitement. Le contrôle de la schistosomiase urinaire par le praziquantel est donc très bénéfique dans le temps au niveau des foyers à mares et marigots temporaires même après un seul traitement. Ce qui n'est pas le cas dans la plupart des villages situés le long de la vallée du fleuve Sénégal, au niveau du lac de Guiers et à proximité des aménagements hydro-agricoles où après un ou deux traitements annuels les ré-infections sont rapides et élevées pouvant atteindre les prévalences de départ (Verle *et al.*, 1994, De Clercq *et al.*, 1999, Webster *et al.*, 2013).

4. Le rôle de l'âge et du sexe dans la ré-infection à Niakhar

Nos résultats ont montré que certains enfants, en particulier les garçons qui avaient un âge compris entre 5 - 7 ans et 8 - 11 ans au début du suivi en 2011, étaient plus réinfectés que ceux de 12 - 15 ans et les adultes de 16 à 30 ans. Cela est dû au fait que dans la zone d'étude de Niakhar, ce groupe d'enfant est plus à risque de l'infection de par la pratique des activités à risque tels que la surveillance du bétail, le lavage du cheval, l'apport des repas de midi aux bergers, recherche des herbes pour les chevaux et les ânes (Senghor *et al.*, 2014a). Ces activités se font toujours à proximité des mares et aux heures les plus chaudes correspondantes aux forts taux d'émissions de cercaires de *S. haematobium* par les mollusques hôtes intermédiaires (Combes & Théron, 1977). En se baignant et en jouant dans l'eau à longueur de journée, ils s'infectent et contaminent en même temps les mollusques en rejetant dans l'eau les œufs de *S. haematobium* avec les urines. Nos résultats sont en accord avec des études antérieures au niveau des foyers à mares temporaires qui ont aussi montré que les enfants de moins de 10 ans sont plus réinfectés en moyenne que ceux de 10 à 14 ans, tandis que les adultes ont connu une très faible ré-infection (Wilkins *et al.*, 1987). Des résultats similaires ont été également rapportés dans des foyers à canaux d'irrigation au niveau de l'Office du Niger au Mali, où les enfants de 6 à 14 ans étaient plus réinfectés que les adolescents de 15 à 20 ans (Etard *et al.*, 1995).

Nos résultats ont montré que le traitement des adultes infectés de plus de 30 ans permet une élimination rapide de l'infection et aucune ré-infection ne s'est produite pendant toute l'étude. Des résultats semblables ont été obtenus après traitement chez des adultes dans une étude menée au Kenya au niveau d'un foyer à transmission continue. Cependant, quelques adultes étaient réinfectés dans la troisième année du suivi parasitologique (King *et al.*, 1991). A Niakhar, il n'y a pas d'aménagements hydro-agricoles pouvant exposer les personnes adultes à la ré-infection comme le cas dans les villages riverains des fleuves où rivières et des zones d'irrigations (King *et al.*, 1991, Etard *et al.*, 1995, Ernoult, 1998, De Clercq *et al.*, 1999). Par conséquent, nous pensons qu'il serait plus bénéfique pour le programme national de lutte contre les bilharzioses de traiter une seule fois tous les 3 ans les personnes à risques de plus de 15 ans dans les foyers saisonniers.

Une autre catégorie de la population qui pourrait être à l'origine de la contamination des points d'eau après les traitements de masse est les enfants de moins de 5 ans qui ne sont pas pris en compte dans les traitements de masse au Praziquantel. En effet, ces enfants barbotent également dans les sites de baignade du marigot et ceux des mares en particulier

ceux très proches des concessions. Vu le taux élevé de fécondité qui est de 6,4 naissances par femme dans la zone d'étude (Biuatti, 2012) et le fait que cette tranche d'âge représente la plus grande part de la population (environ 21%), il est fort possible que cette couche de la population laissée en rade, constitue un réservoir de l'infection non exploré à Niakhar.

Ailleurs, dans le district de Kédougou, au Sénégal, une étude a rapporté une prévalence élevée de *S. mansoni* de 78 % chez des enfants âgés de 0-5 ans (Ndao *et al.*, 2014). Une autre étude dans une communauté rurale près d'Abeokuta, au Nigéria a aussi trouvé une prévalence de *S. haematobium* de 58,1% chez des enfants âgés de 1 à 6 ans (Ekpo *et al.*, 2010).

Dans l'ensemble, nos observations durant les trois cycles de transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire et celles faites dans d'autres programmes de traitements similaires (Savioli *et al.*, 1990, King *et al.*, 1992, Hatz *et al.*, 1998) indiquent que le traitement de masse répété des enfants d'âge scolaire peut réduire considérablement les niveaux de morbidité et prévenir d'éventuelles complications chez les populations touchées par *S. haematobium*.

Cependant, malgré cette réduction significative de l'infection après chaque traitement, la ré-infection a toujours eu lieu même si tout le long du suivi elle est restée très basse comparée à la prévalence de départ. La présence en 2013 de bulins infestés par *S. haematobium* et d'une prévalence moyenne de 10,1% en 2014 dans la cohorte indiquent que la transmission de *S. haematobium* est toujours active dans la zone d'étude Niakhar. Cela montre aussi que si les traitements viennent à s'arrêter, les prévalences peuvent augmenter au bout de quelques années et atteindre la situation de départ. Ce phénomène était rapporté dans une étude menée dans l'île de Pemba au Zanzibar où l'administration de masse du Praziquantel a fortement réduit la prévalence de l'infection, mais peu de temps après l'interruption de la distribution des médicaments, les prévalences étaient revenues rapidement à des niveaux d'avant intervention (Guidi *et al.*, 2010). Nos résultats appellent donc à une intégration dans les campagnes de traitements de masse la lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires afin de maintenir et consolider cet effet très bénéfique des traitements répétés sur la schistosomiase urinaire dans les foyers à mares et marigots temporaires.

5. Les mollusques rencontrés à Niakhar : Systématique et distribution géographique

Nous avons identifié en se basant sur la morphologie de la coquille les deux espèces de mollusques rencontrées dans les mares et le marigot à Niakhar comme étant *B. umblicatus* et *B. senegalensis*. Ces espèces ont déjà été signalées au Sénégal dans plusieurs zones

écologiques (Diaw, 1984b, Diaw, 1986). Cependant la présence de *B. umbilicatus* est rapportée pour la première fois dans la région écologique du Sine-Saloum. Les travaux antérieurs dans cette même zone écologique avaient rapportés la présence de toutes les espèces de bulins rencontrées au Sénégal sans faire mention de *B. umbilicatus* (Diaw *et al.*, 1992b). La systématique de *B. umbilicatus* et *B. senegalensis* basée sur les critères morphologiques a été confirmée par l'analyse phylogénétique d'une séquence partielle de la sous-unité 1 du gène du cytochrome oxydase (Cox1). Ce gène a été utilisé pour identifier et différencier les mollusques du genre *Bulinus* de l'Afrique et a démontré une bonne résolution (Jones *et al.*, 2001, Stothard *et al.*, 2001, Kane *et al.*, 2008). Il a été utilisé pour caractériser *B. truncatus*, *B. globosus* et *B. forskalii* (Kane *et al.*, 2008) mais également *B. senegalensis* (Jones *et al.*, 2001) collectés dans différentes localités au niveau de la vallée du fleuve Sénégal. Cependant aucune étude n'avait au paravent identifié génétiquement *B. umbilicatus* du Sénégal. Les seules séquences du gène Cox1 de *B. umbilicatus* disponible dans genbank sont originaires du Niger et avait permis d'identifier génétiquement des populations de cette espèce (Stothard *et al.*, 2001). Les méthodes traditionnelles d'identification des bulins et devraient être utilisées conjointement avec les nouvelles approches moléculaires pour permettre une meilleure compréhension de l'épidémiologie de la schistosomose urinaire au Sénégal.

B. senegalensis est l'espèce la plus abondante et répandue dans la zone d'étude. Nos résultats corroborent ceux de (Goll & Wilkins, 1984, Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992 confirmant ainsi la grande distribution de cette espèce dans les mares de la zone soudano-sahélienne (Goll & Wilkins, 1984, Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992b). Par contre, *B. umbilicatus* a une distribution très limitée sur le marigot à hauteur du village de Gajak, et au niveau d'une seule mare à Ngangarlam. Ceci pourrait expliquer le fait qu'elle n'a pas été trouvée dans des études précédentes. Le faible nombre d'espèce de mollusque noté dans la présente étude est certainement lié à l'écologie de la zone de Niakhar mais aussi à une adaptation des mollusques à un biotope particulier. D'autres espèces de mollusques ont été rencontrées dans d'autres localités de la région soudano-sahélienne à Kaolack et dans les départements de Tambacounda et Fatick (Diaw *et al.*, 1992a, Diaw *et al.*, 1992b).

Cependant, il est bon de rappeler que depuis 30 ans, la zone soudano-sahélienne, en particulier la zone d'étude de Niakhar a souffert de la sécheresse. La pluviométrie moyenne annuelle était passée de 800 mm en 1950 à 500 mm en 1980 (Delaunay *et al.*, 2013). Cette longue période de sécheresse peut expliquer l'absence d'autres espèces de mollusques dont la

capacité à résister à la sécheresse est inférieure à celle de *B. senegalensis* et *B. umbilicatus* (Diaw *et al.*, 1988b, Diaw *et al.*, 1989, Brown, 1994).

Comme les dernières enquêtes malacologiques dans cette vaste région écologique du Sine-Saloum ont été réalisées depuis 1992, il est serait intéressant, vingt deux ans après, de revoir la distribution actuelle des mollusques et la situation épidémiologique des trématodoses en général.

6. Dynamique des populations : Abondance et densité relative des mollusques

Dans les points d'eau temporaires de la zone soudano-sahélienne, des études antérieures ont montré que les conditions écologiques sont hostiles au développement de nombreuses espèces de mollusques (Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992a, Diaw *et al.*, 1992b). Dans la zone de Niakhar, les précipitations sont généralement faibles (entre 500 à 700 mm). Les températures élevées et le retour des troupeaux de la transhumance en Novembre favorisent de par l'évaporation et l'abreuvement, l'assèchement rapide des points d'eau quelques mois après la saison des pluies. Il a été aussi démontré que *B. umbilicatus* et *B. senegalensis* s'adaptent à ces écosystèmes en mettant en place un cycle court leur permettant d'avoir une forte densité de population et de jouer leur rôle comme hôtes intermédiaires de *S. haematobium* (Diaw *et al.*, 1989). Les fluctuations de densité et d'abondance de *B. umbilicatus* et *B. senegalensis* dans la zone de Niakhar dépendent étroitement de la pluviométrie et de la durée de l'eau. Le même constat a été fait dans les études antérieures menées dans les mares et marigots temporaires (Goll & Wilkins, 1984, Diaw *et al.*, 1989). La remontée saline notée dans le marigot peut aussi avoir un effet sur l'abondance et la densité des mollusques car le bulin se développe dans les eaux douces. Toutefois, des études supplémentaires pourraient être menées dans ces points d'eau pour évaluer l'influence de certains facteurs physiques et chimiques, tels que la couverture végétale, la salinité, la température, le pH, la conductivité et la turbidité de l'eau sur l'abondance et la densité de ces bulins dans ces écosystèmes.

7. Infestation et rôle épidémiologique de *B. senegalensis* et *B. umbilicatus*

Très peu de bulins ont été trouvés naturellement infectés par des cercaires de schistosome tout le long du suivi. Toutefois, ceci n'empêche par le cycle de la transmission d'être maintenu. En effet, un seul miracidium peut donner naissance à plus de 100 000

cercaires et par conséquent, une faible proportion de bulins infectés peut parasiter un très grand nombre de personnes (Fain, 1972, Jourdane, 1982).

En 2011, aucun bulin testé n'a émis des cercaires de *Schistosoma* sp. alors que la prévalence de *S. haematobium* était élevée dans tous les villages. Ces résultats sont similaires à d'autres études menées dans les zones endémiques en Ouganda et en Tanzanie, où aucun des bulins recueillis dans les sites de transmission n'avait émis des cercaires de schistosome (Standley *et al.*, 2010, Teckla *et al.*, 2014). Au Sénégal, très peu ou pas de bulins émetteurs de cercaires ont souvent été rapportés par les études antérieures menées dans les mares et marigots temporaires de la zone soudano-sahélienne (Diaw, 1986, Diaw *et al.*, 1989, Diaw *et al.*, 1992a, Diaw *et al.*, 1992b). Dans notre étude, l'absence de bulins infestés en 2011 est certainement due aux faibles densités de mollusques récoltés car l'étude avait démarrée vers la fin de la période de transmission et le temps de collecte était de 15 minutes par mois dans chaque site. D'autres facteurs, tels que les fluctuations dans l'abondance de la population de mollusques et dans la production des cercaires pourraient aussi expliquer ce résultat (Walker, 2011, Kariuki *et al.*, 2013).

En 2012, la périodicité des prospections et le temps de collecte était le même qu'en 2011. Cependant, le cycle était complet et nous avons trouvé *B. umbilicatus* infesté en Juillet. Par contre aucun *B. senegalensis* testé n'avait émis des cercaires de schistosomes, probablement due aussi aux faibles effectifs échantillonnés mais aussi à la diminution de la contamination grâce aux traitements répétés des hôtes définitifs.

En 2013, les collectes étaient rapprochées. Elles étaient faites par quinzaine et le temps de récolte augmenté à 30 minutes. Cela nous avait permis d'avoir des effectifs importants de *B. senegalensis* et de le trouver infesté dans plusieurs mares et dans le marigot malgré les deux traitements de masse des autres enfants et nos trois traitements répétés dans la cohorte. Par conséquent, nous suggérons que pour une bonne compréhension de la dynamique des mollusques dans les foyers temporaires, il serait bien de planifier les visites des points d'eau par quinzaine et de recueillir les mollusques pendant au moins 30 minutes au cas où c'est une seule personne qui effectue la collecte.

L'étude de la variabilité génétique de *B. umbilicatus* et *B. senegalensis* pourrait permettre de mieux apprécier leurs rôles dans la transmission de la schistosomiase urinaire à Niakhar. Par ailleurs, il a été démontré que la faible diversité génétique dans les populations de mollusques hôtes intermédiaires peut augmenter la susceptibilité pour le parasitisme et par conséquent la survenue des parasitoses (Schmid-hempel, 1998, Coltman *et al.*, 1999).

Globalement en 2013, peu de bulins ont été trouvés infestés alors que les densités dans les points d'eau et les mollusques testés étaient importantes. Cela pourrait s'expliquer par l'effet des traitements de masse qui avaient eu lieu dans la zone avant la période de transmission en Avril 2012 et 2013.

En effet, la distribution en masse du praziquantel chez les enfants en âge scolaire aurait permis de réduire fortement les quantités d'œufs viables libérés dans l'environnement réduisant ainsi les possibilités d'infecter les mollusques dans les mares et le marigot. L'existence de la transmission de la schistosomiase est certifiée par l'identification de mollusques émetteurs de cercaires de schistosome, ce qui n'est pas toujours évident dans les foyers à mares et marigots temporaires.

Par conséquent, les résultats de cette étude suggèrent l'utilisation de techniques moléculaires qui peuvent détecter à la fois les infections pré-patentes et patentes (Hamburger *et al.*, 2004). Cela pourrait être d'une grande utilité pour l'évaluation de la transmission de la schistosomiase urinaire dans ces zones à transmission saisonnière, surtout après des traitements de masse.

Les études antérieures réalisées dans les points d'eau de la région de Fatick (Sine-Saloum) n'avaient pas trouvé de bulins infectés par des cercaires de *Schistosoma sp.* (Diaw *et al.*, 1992b).

Au Sénégal, *B. senegalensis* est seulement impliqué dans la transmission de *S. haematobium*. Il a été trouvé infecté dans la moyenne vallée du fleuve Sénégal vers Podor et Matam (Vercruysse *et al.*, 1994, Picquet *et al.*, 1996), ainsi que dans la région de Kaolack (Sibassor) (Diaw *et al.*, 1992b). En Gambie, il est le seul bulin impliqué dans la transmission de *S. haematobium* dans le système des mares temporaires (Goll & Wilkins, 1984). Au Cameroun, il est l'hôte intermédiaire principal dans les zones arides (Greer *et al.*, 1990).

Dans notre étude, *B. senegalensis* était trouvé infecté par des cercaires *Schistosoma sp.* Selon ces résultats et le fait que *B. senegalensis* transmet *S. haematobium* et non les schistosomes animaux au Sénégal, il est clair que ce mollusque joue un rôle dans la transmission de *S. haematobium* dans la zone d'étude de Niakhar.

B. umblicatus quand à lui est un hôte intermédiaire de *S. haematobium* et *S. curassoni* au Sénégal (Diaw, 1986, Vercruysse, 1990). Il était le seul bulin infecté par *Schistosoma sp.* dans des mares temporaires au niveau du département de Tambacounda au Sénégal (Diaw *et al.*, 1989).

À Niakhar, nous l'avons aussi trouvé infecté par des cercaires du groupe *S. haematobium* dans une mare, mais les espèces n'ont pas été identifiées. Toutefois, compte

tenu de la dynamique de la transmission de *S. haematobium* montrée par les résultats du suivi parasitologique parallèle des populations humaines de ce village qui fréquentent particulièrement cette mare, la réduction significative des taux d'infection de ce bulin en 2013 après les traitements de masse de 2012 et 2013 et le fait que les schistosomes animaux (*S. curassoni* et *S. bovis*) sont très faibles dans cette zone écologique du Sine-Saloum (Diaw *et al.*, 1992b), tandis que la prévalence de *S. haematobium* est élevée (Senghor *et al.*, 2014a) ; il est très possible que *B. umblicatus* soit infecté par *S. haematobium*. En outre, les cercaires émises par ce bulin étaient morphologiquement semblables à ceux émis par *B. senegalensis*. Vu, ces difficultés que nous avons rencontrées pour identifier les cercaires de *S. haematobium* émis par *B. umblicatus*, nous pensons qu'il serait bien d'utiliser les nouvelles techniques de biologie moléculaire afin de mieux caractériser les cercaires dans le groupe de schistosomes à œufs avec épine terminale au Sénégal.

Bien que ces résultats ne confirment pas la nature exacte de cercaires, ils sont d'une grande importance car ils ont montré pour la première fois que dans cette zone de Niakhar (région de Fatick), *B. umblicatus* et *B. senegalensis* sont les mollusques hôtes intermédiaires de parasite du groupe *S. haematobium*. Les résultats de cette étude indiquent que la transmission est saisonnière et qu'à part le village de Ngangarlam où l'infection se produit de Juillet à Novembre, dans tous les autres villages, elle a lieu entre Septembre et Novembre, période des grandes eaux et de fortes fréquentations.

8. Structure de la population et résistance à la sécheresse de *B. senegalensis* et *B. umblicatus*

Le marigot et les mares de la zone d'étude de Niakhar sont à sec de Novembre-Décembre à Juillet. Tous les mollusques collectés en Juillet, après leur mise en eau ont donc traversé une période d'assèchement de 6 à 7 mois. Ce phénomène de résistance à la sécheresse a été décrit dans des études antérieures et est bien connu chez les mollusques d'Afrique en particulier *Bulinus sp.* (Smithers, 1956, Diaw *et al.*, 1989, Brown, 1994). Des études sur la résistance à la sécheresse de *B. umblicatus* et *B. senegalensis* ont montré que les deux espèces de mollusques peuvent résister pendant 7 à 8 mois d'assèchement des mares et que ce sont ceux de grande taille (adultes) qui sont plus aptes à résister (Diaw *et al.*, 1988b, Diaw *et al.*, 1989). En plus de leur capacité à survivre à la sécheresse, ces bulins peuvent maintenir leurs infestations d'une saison à l'autre. En effet, des *B. nasutus* au Tanganyika ont

été trouvés infectés dans des mares après 5 mois de sécheresse et cela, 21 jours après la mise en eau (Webbe & Msangi, 1958).

Dans notre étude, seul *B. umbilicatus* a été trouvé infecté en 2012 et 2013, après une période d'assèchement de 7 mois et cela, 21 et 25 jours après les premières pluies respectivement. Ce phénomène signalé pour la première fois au Sénégal, confirme l'étude de Tanganyika. Il est d'une grande importance dans l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire dans les foyers à mares temporaires au Sénégal car pouvant augmenter le risque d'infection et la période de transmission qui jusqu'à présent était callée entre Septembre et Novembre. Le fait que *B. umbilicatus* ait été trouvé infecté par *S. haematobium* à Tambacounda (Diaw *et al.*, 1992a) et à Niakhar avec des taux assez élevés prouve qu'il joue un rôle important dans la transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire au niveau des mares temporaires au Sénégal. Par conséquent, des études approfondies sur ce bulin sont nécessaires car en plus du rôle épidémiologique qu'il joue dans ces foyers, il est capable de résister à la sécheresse et garder son infection d'une saison à une autre. *B. umbilicatus* est également impliqué dans la transmission d'une schistosomiase animale (*S. curassoni*) au Sénégal (Vercruyssen *et al.*, 1985, Diaw, 1986, Diaw *et al.*, 1988a).

Au Libéria, un essai de contrôle de la schistosomiase par la chimiothérapie de masse combiné avec une application locale de molluscicides, a fortement réduit les populations de *B. globosus* de 99%, et arrêté la transmission de *S. haematobium* pendant au moins un an. Cela a entraîné une réduction de la prévalence chez les populations humaines de 21% à 4,6% (Saladin *et al.*, 1983).

Les résultats de notre étude suggèrent un contrôle de la population de mollusques dans les points d'eau de la zone de Niakhar afin de réduire complètement la transmission. Pour cela, il est nécessaire d'adapter la lutte au cycle de l'eau et des mollusques. Dans le cas particulier de Niakhar, un traitement des mares entre Novembre et Décembre quand ces points d'eau ne sont plus fréquentés et avant que les mollusques restants n'entrent en diapause dans la boue serait moins coûteux et plus efficace. Il aurait l'avantage d'être concentré sur les petites flaques d'eau et de cibler la quasi-totalité des bulins.

CONCLUSION GENERALE, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS

CONCLUSION GENERALE

Les travaux réalisés dans cette thèse ont porté sur le suivi de la dynamique de la transmission de la schistosomiase urinaire dans un foyer saisonnier au centre du Sénégal, en zone soudano-sahélienne pendant 3 années consécutives de 2011 à 2014.

La réalisation de ces travaux n'a été possible qu'à travers des études menées dans un contexte particulier : La zone d'étude de Niakhar qui est un site de suivi démographique, environnemental et épidémiologique (SSDEE). Ainsi, le premier objectif de notre thèse était de montrer l'endémicité de la schistosomiase urinaire à Niakhar en déterminant la prévalence et l'intensité de l'infection. Pour cela, nous avons ciblé les élèves chez qui la prévalence reflète le niveau d'endémicité de la parasitose dans la communauté. Grâce à cette étude, nous avons pu montrer pour la première fois que la schistosomiase constituait un problème de santé publique à Niakhar avec une prévalence moyenne de 57,6% et qu'un enfant sur deux était fortement infecté. Ce niveau de l'infection correspond selon les critères de l'OMS à un traitement annuel répété pendant trois ans des enfants en âge scolaire et des adultes à risques (WHO, 2002).

Comme l'efficacité du praziquantel est très peu documentée dans les foyers saisonniers au Sénégal, le deuxième objectif de notre travail a été d'évaluer l'efficacité d'un seul traitement au Praziquantel (40 mg/kg) contre *S. haematobium* chez des enfants de 5 à 15 ans. Les résultats de cette étude ont montré que dans ce foyer à transmission saisonnière, une seule dose de le praziquantel (40 mg/kg) est largement suffisante pour atteindre l'objectif principal du programme national de lutte au Sénégal qui est de réduire la morbidité afin de prévenir les conséquences terribles dues à la schistosomiase uro-génitale.

La troisième partie de ce travail a été donc d'étudier la dynamique des mollusques hôtes intermédiaires et de déterminer les espèces responsables de la transmission. Cette étude a montré que les seuls mollusques présents dans la zone d'étude de Niakhar sont : *B. senegalensis* et *B. umblicatus*. *B. senegalensis* est plus abondant et répandu dans la zone. Il intervient dans la transmission au niveau des mares où il existe seul et au niveau du marigot où il coexiste avec *B. umblicatus*. Sa présence dans la zone écologique du Sine-Saloum était déjà signalée dans les études antérieures. Par contre, *B. umblicatus* est moins abondant avec une distribution très limitée. Il intervient dans la transmission de la schistosomiase au niveau de la mare temporaire du village de Ngangarlam où il coexiste avec *B. senegalensis*. Il a été signalé pour la première fois dans cette zone écologique du Sénégal. Le marigot et les mares sont les seules sites de transmission. Ils sont en eau de Juillet à Novembre-Décembre et à secs

de Décembre à Juin. L'étude de l'écologie des mollusques collectés en Juillet quelques jours après les premières pluies nous a permis de confirmer la capacité de *B. senegalensis* et *B. umbilicatus* à survivre à l'assèchement de ces points d'eau. Cela nous a également permis de montrer pour la première fois que *B. umbilicatus* peut garder les stades larvaires du parasite pendant cette période de sécheresse ce qui lui permet de transmettre la parasitose dès le mois de juillet. Ce phénomène est d'une grande importance sur l'épidémiologie de la schistosomiase urinaire dans les foyers à mares temporaires en ce sens qu'il peut augmenter la période et le risque de transmission. Ainsi, dans la zone d'étude de Niakhar, la transmission de la schistosomiase se fait de Juillet à Novembre dans le village de Ngangarlam et *B. umbilicatus* est l'hôte intermédiaire. Dans les autres villages, elle a lieu de Septembre à Novembre et *B. senegalensis* est responsable de la transmission.

En observant les caractéristiques de la zone d'étude de Niakhar, il se dégage que de nombreuses mares et les sites du marigot sont susceptibles d'être à risque pour la population car des mollusques infectés y ont été collectés. Il s'agit des points d'eau suivants : mare Fassaw (Sass njafaj), mare Thiolaye (Tukar), mare Omamane (Logdir et Diohin), mare Mbel Khakhale (Ngangarlam), mare Ngafoye (Puday) et le marigot "Bill Bill" (Gajak et Godel).

L'intérêt des traitements répétés des populations par le praziquantel réside sur leurs capacités à maintenir les prévalences et les degrés de morbidité à des niveaux faibles où ils ne constitueront un problème de santé publique. Ils ont aussi pour intérêt de diminuer indirectement la contamination des escargots dans leurs biotopes par l'élimination de l'excrétion des œufs viables (Stothard *et al.*, 2013).

Ce point a fait l'essentiel de cette thèse et a été le dernier objectif de nos travaux. Nous avons étudié, l'impact d'un traitement annuel répété pendant 3 ans de 2011 à 2013 sur la dynamique de transmission saisonnière de la schistosomiase urinaire. Cette étude a montré la pertinence d'évaluer en alternance l'efficacité des traitements répétés et la ré-infection à l'échelle des villages. L'originalité de ce suivi est telle qu'il renseigne de façon très fine sur la dynamique de la transmission de *S. haematobium* et permet de déceler des différences de transmission très focales que les suivis à l'échelle régionale ou nationale ne permettent pas détecter.

L'ensemble des deux suivis nous ont donc permis de montrer que les ré-infections dans les zones à transmissions saisonnières sont très faibles et qu'elles peuvent être différentes au sein d'un village et entre les villages d'une année à l'autre. Ces ré-infections sont étroitement dépendantes de la pluviométrie, de la dynamique saisonnière des mollusques, de la proximité des concessions avec les sites de transmission mais également du sexe et de l'âge.

Les traitements répétés au Praziquantel (40 mg/kg) ont un impact effectif sur la transmission de la schistosomiase urinaire chez les populations des villages fréquentant les mares et marigots temporaires de par la nature du système épidémiologique à transmission saisonnière. Ce qui n'est pas le cas chez les populations riveraines de la vallée du fleuve Sénégal où la transmission et la ré-infection sont permanentes et élevées. La lutte contre la schistosomiase urinaire est donc plus bénéfique à court terme dans les foyers saisonniers au Sénégal. En effet, la prévalence qui était supérieure à 50% avant traitement est maintenue à un niveau inférieur à 15% après les trois années de traitement. Cependant, à la fin du suivi, une prévalence moyenne de 10,1% existe dans la cohorte suivie de même un taux d'infection moyen des mollusques hôtes intermédiaires de 0,5%. Cela indique que la transmission se poursuit mais à un niveau faible. Ainsi, pour maintenir et consolider à long terme cet acquis et impacter davantage sur la morbidité due à la schistosomiase urinaire, une lutte malacologique adaptée aux cycles des mollusques et de l'eau serait indispensable.

PERSPECTIVES

Le traitement répété au praziquantel contre *S. haematobium* a un impact réel dans la zone d'étude de Niakhar. Il serait bien d'évaluer l'efficacité de cette stratégie de lutte dans un plus grand nombre de foyers saisonniers d'autant plus que l'impact de l'administration répétée en masse du PZQ est très peu documenté dans ces systèmes épidémiologique à mares et marigots temporaires.

Les enfants de moins de 5 ans n'ont pas été pris en compte dans cette étude. Il serait intéressant de voir la prévalence dans cette tranche de la population à Niakhar et d'évaluer l'efficacité de la stratégie de traitement avec du Sirop de Praziquantel (Epiquantel[®]) ou celle consistant à broyer le comprimé et à le mélanger avec du jus de fruit, de l'eau et du miel. Ces stratégies sont de plus en plus utilisées en Afrique notamment en Côte d'Ivoire (Coulibaly *et al.*, 2012), au Zimbabwe (Mutapi *et al.*, 2011) et au Niger (Garba *et al.*, 2013) et ont montré des taux de guérisons élevés variant entre 88,7% et 92%.

Les enfants de 5 à 15 ans étaient plus infectés et ré-infectés par *S. haematobium* comparés aux adultes de plus de 16 ans. Des études immunologiques pourront être menées dans la zone de Niakhar pour investiguer la variation de la sensibilité à l'acquisition de la schistosomiase urinaire en fonction de l'âge.

Les conditions météorologiques dans cette zone Soudana-sahélienne ne sont pas très favorables au développement des bulins, le cycle des mares est très court (4 mois). Ce qui rend difficile d'obtenir des bulins infectés dans la plupart des sites de transmission qui sont aussi bien fréquentés et où des densités élevées de bulins ont été enregistrées. Compte tenu de la répartition des espèces connue dans la zone, d'autres études pourront être réalisées pour déterminer leurs taux d'infection dans ces sites.

Le nombre de mollusques qui ont été trouvés infectés par des furcocercaires de *Schistosoma* sp. était important chez *B. umbilicatus* ; ce qui doit ouvrir une piste vers des recherches orientées sur une possible augmentation de la schistosomose animale à *S. curassoni* dans cette zone sylvo-pastorale du Sine-Saloum.

Des études supplémentaires sont envisageables pour évaluer les corrélations entre les facteurs physico-chimiques de l'eau (couvert végétal, salinité, température, pH, conductivité et turbidité) sur l'abondance et l'infectivité des bulins à Niakhar.

La phase pré-patente de l'infection chez les bulins n'a pas été explorée dans ce travail. Etant donné que l'infection pourrait être à un stade précoce chez l'hôte intermédiaire, des techniques moléculaires telles que la PCR et la RT-PCR sont nécessaires pour améliorer l'étude de l'infection des bulins par *S. haematobium* par la détection des formes patentes et pré-patentes.

Les cercaires émises par les bulins lors de cette étude n'ont pas été différenciées. Etant donné que *B. umbilicatus* peut transmettre *S. haematobium* et *S. curassoni* au Sénégal (Diaw, 1986, Vercruysse, 1990), des techniques basées sur la chétotaxie, la chronobiologie des émissions cercariennes, de même que les marqueurs moléculaires ainsi que la spectromètre de masse (MALDI-TOF) pourront être utilisées dans des études ultérieures pour différencier les cercaires des deux parasites.

La zone d'étude de Niakhar est le siège de plusieurs interventions médicamenteuses telles que les traitements préventifs du paludisme par les combinaisons à base d'Artémisinine. Il serait aussi important d'investiguer les effets combinés du praziquantel et de ces médicaments sur *S. haematobium* et éventuellement sur *Plasmodium falciparum* responsable du paludisme dans la zone.

RECOMMANDATIONS

Les recommandations de ce travail s'adressent à trois niveaux :

a) **Aux autorités locales de Niakhar**

Nous ferons les recommandations suivantes :

- Sensibiliser la population sur l'utilisation de l'eau des mares et du marigot particulièrement les mares de Fassaw (Sass njafaj), Thiolaye (Tukar), Omamane (Logdir et Diohin), Mbel Khakhale (Ngangarlam), Poudaye (Ngafoye) et le marigot "Bill Bill" (Gajak et Godel) ainsi que dans les autres villages ;
- Obtenir la participation communautaire dans la lutte contre la maladie : par la limitation des contacts infectants après signalisation des principales mares et les sites du marigot infestés ;
- Appuyer le PNLB dans ses campagnes de traitement de masse ;
- Veiller au maintien des forages qui fonctionnent et améliorer l'état de ceux qui sont défectueux de façon à accroître l'accès à l'eau potable.
- Installation de systèmes d'approvisionnement en eau surtout dans les villages de Gajak, Ngangarlam, Kocokh et Godel. Cette eau devra être utilisée pour tout usage domestique.

b) **A l'Institut de recherche pour le développement (IRD)**

Certaines recommandations peuvent être adressées à l'Urmite-198/IRD, à savoir :

- Prendre en compte la schistosomiase urinaire dans les programmes de surveillance épidémiologique en intégrant dans les questionnaires d'autopsies verbales, des questions liées à la morbidité afin de la documenter ;
- Fournir une assistance et une formation technique pour soutenir les efforts de lutte;
- Soutenir le renforcement de la recherche opérationnelle afin d'entreprendre des études visant à optimiser l'application de stratégies de lutte dans le contexte particulier de la zone de Niakhar.

c) Au Programme national de lutte contre les bilharzioses au Sénégal (PNLB)

A ces autorités, nous recommandons ce qui suit :

- Redynamiser les activités d'éducation sanitaire lors des campagnes de traitement de masse, en insistant sur la suppression des comportements occasionnant le plus de risque dans la transmission et sur l'hygiène personnelle.
- Partant des prévalences avant traitement dans ces villages, il serait bien d'évaluer 4 ans après l'impact des trois traitements de masse annuels sur un plus grand nombre de personnes et de villages dans la zone de Niakhar.
- Promouvoir une lutte durable contre la transmission par un assainissement efficace des mares et du marigot grâce à l'épandage de molluscicides biologiques ou d'origine végétale ;
- Former les enseignants des écoles dans tous les villages, les agents de santé communautaires et les infirmiers des centres de santé de Tugar, Diohin et Ngayokhem dans la lutte contre la bilharziose avec comme tâches : la sensibilisation de la communauté pour sa participation, la vulgarisation des messages éducationnels en rapport avec la transmission de la maladie. A ce niveau, nous évoquerons la nécessité d'un programme spécial d'éducation pour la santé par l'information du grand public et la communication, grâce à différents procédés (posters, affiches, projections de films, organisations de réunions dans la communauté, recours aux griots publics, etc.).
- Renforcer les programmes de santé scolaire en rapport avec la schistosomiase.
- Continuer le traitement répété afin de maintenir les prévalences et réduire d'avantage la morbidité. Les traitements pourront être espacés de 3 ans dans ces zones à transmission temporaires et cibler les enfants en âge scolaire de 5 à 15 ans au cas où les médicaments et les fonds ne sont plus très disponibles. Un seul traitement peut aussi avoir un impact considérable sur la transmission de la schistosomiase urinaire pendant au moins 3 ans dans ces foyers saisonniers.
- Soutenir les recherches sur la schistosomiase afin d'explorer plus de foyers à travers le pays.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahmed, A. M., Abbas, H., Mansour, F. A., Gasim, G. I. Adam, I., 2012: *Schistosoma haematobium* infections among schoolchildren in central Sudan one year after treatment with praziquantel. *Parasites Vectors*, **5**, 108.
- Akiana, J., 2003: Susceptibilité au paludisme à *P. falciparum* chez les enfants co-infectés par les helminthes intestinaux et urinaires au Sénégal: approches clinique, parasitologique, épidémiologique et hypothèse immunologiques., *Biologie Animale*. Université Cheikh Anta Diop, Dakar.
- Albaret, J. L., Bayssade-Dufour, C. Ngendahayo, L. D., 1993: Identification des cercaires de *Schistosoma* africains émises par *Bulinus umbilicatus*, *B. truncatus* et *B. forskalii*. *Systematic Parasitology*, **26**, 209-214.
- Amarir, F., Sebti, F., Abbasi, I., Sadak, A., Fellah, H., Nhammi, H., Ameer, B., El Idrissi, A. L. Rhajaoui, M., 2014: *Schistosoma haematobium* detection in snails by DraI PCR and Sh110/Sm-SI PCR: further evidence of the interruption of schistosomiasis transmission in Morocco. *Parasites & vectors*, **7**, 288.
- ANOFEL, 2014: Bilharzioses. p. 25. Available at: <http://umvf.univ-nantes.fr/parasitologie/enseignement/bilharzioses/site/html/cours.pdf>.
- Becker, C. Collignon, R., 1994: La bilharziose au Sénégal: aperçu historique. In: ORSTOM (ed.), *Journée scientifique du programme Espoir*. ORSTOM, Dakar.
- Bethony, J., Williams, J. T., Kloos, H., Blangero, J., Alves-Fraga, L., Buck, G., Michalek, A., Williams-Blangero, S., Loverde, P. T., Correa-Oliveira, R. Gazzinelli, A., 2001: Exposure to *Schistosoma mansoni* infection in a rural area in Brazil. II: household risk factors. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, **6**, 136-145.
- Betterton, C., Fryer, S. E. Wright, C. A., 1983: *Bulinus senegalensis* (Mollusca: Planorbidae) in northern Nigeria. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **77**, 143-149.
- Betterton, C., Ndifon, G. T., Basse, S. E., Tan, R. M. Oyeyi, T., 1988a: Schistosomiasis in Kano State, Nigeria. I. Human infections near dam sites and the distribution and habitat preferences of potential snail intermediate hosts. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **82**, 561-570.
- Betterton, C., Ndifon, G. T. Tan, R. M., 1988b: Schistosomiasis in Kano State, Nigeria. II. Field studies on aestivation in *Bulinus rohlfsi* (Clessin) and *B. globosus* (Morelet) and their susceptibility to local strains of *Schistosoma haematobium* (Bilharz). *Annals of tropical medicine and parasitology*, **82**, 571-579.
- Biocca, E., Bullini, L., Chabaud, A., Nascetti, G., Orecchia, P. Paggi, L., 1979: Subdivisione su base morfologica e genetica del genere *Bulinus* in tre generi: *Bulinus* Muller, *Physopsis* Krauss e *Mandahlbarthia* gen. nov. rendiconti della classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali. *Accademia Nazionale dei Lincei*, **66**, 276-282.
- Biuatti, A., 2012: Analyse de la Fécondité à Partir des Données du SSD de Niakhar, Sénégal par la Méthode d'Analyse Statistique des Biographies. Aix-Marseille Université, IRD.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. Davis, R. W., 1980: Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, **32**, 314-331.
- Bottieau, E., Clerinx, J., de Vega, M. R., Van den Enden, E., Colebunders, R., Van Esbroeck, M., Vervoort, T., Van Gompel, A. Van den Ende, J., 2006: Imported Katayama fever: clinical and biological features at presentation and during treatment. *The Journal of infection*, **52**, 339-345.
- Boudain, C., 1979: *Cours international en langue française de surveillance épidémiologique et de lutte contre les maladies transmissibles: les schistosomiasis*., p. 39. OCCGE, Bobo-Dioulasso.

- Bouré, P., 2005: Parasitoses urinaires. *Anales d'urologie*, **39**, 232-234.
- Briand, V., Watier, L., JY, L. E. H., Garcia, A. Cot, M., 2005: Coinfection with *Plasmodium falciparum* and *Schistosoma haematobium*: protective effect of schistosomiasis on malaria in senegalese children? *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **72**, 702-707.
- Brown, D. S., 1994: *Freshwater snails of Africa and their medical importance*. Taylor & Franch London.
- Butterworth, A. E., 1998: Immunological aspects of human schistosomiasis. *Br Med Bull*, **54**, 357-368.
- Chaula, S. A. Tarimo, D. S., 2014: Impact of praziquantel mass drug administration campaign on prevalence and intensity of *Schistosoma haemantobium* among schoolchildren in Bahi district, Tanzania. *Tanzania Journal of Health Research*, **16**.
- Cheever, A. W., Hoffmann, K. F. Wynn, T. A., 2000: Immunopathology of schistosomiasis mansoni in mice and men. *Immunology today*, **21**, 465-466.
- Chen, M. G., 1989: Schistosomiasis control program in the People's Republic of China: a review. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, **20**, 511-517.
- Chippaux, J. P., 2005: *Recherche intégrée sur la santé de populations à Niakhar (Sahél Sénégalais)*. IRD, Paris.
- Chitsulo, L., Engels, D., Montresor, A. Savioli, L., 2000: The global status of schistosomiasis and its control. *Acta tropica*, **77**, 41-51.
- Cioli, D., Pica-Mattocchia, L. Archer, S., 1995: Antischistosomal drugs: past, present and future? *Pharmacology & therapeutics*, **68**, 35-85.
- Cnops, L., Soentjens, P., Clerinx, J. Van Esbroeck, M., 2013: A *Schistosoma haematobium*-specific real-time PCR for diagnosis of urogenital schistosomiasis in serum samples of international travelers and migrants. *PLoS Negl Trop Dis*, **7**, e2413.
- Coltman, D. W., Smith, J. A., Bancroft, D. R., Pilkington, J., MacColl, A. D., Clutton-Brock, T. H. Pemberton, J. M., 1999: Density-dependent variation in lifetime breeding success and natural and sexual selection in Soay rams. *The American naturalist*, **154**, 730-746.
- Combes, C. Théron, A., 1977: Rythmes d'émergence des cercaires de Trématodes et leur intérêt dans l'infestation de l'homme et des animaux. *Instituto de Biologia Publicaciones*, **4**, 141-150.
- Coulibaly, G., 2000: La lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires des schistosomes. In: J. P. Chippaux (ed.), *La lutte contre les schistosomes en Afrique de l'Ouest*. IRD, Paris.
- Coulibaly, J. T., N'Gbesso Y, K., Knopp, S., Keiser, J., N'Goran, E. K. Utzinger, J., 2012: Efficacy and safety of praziquantel in preschool-aged children in an area co-endemic for *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*. *PLoS Negl Trop Dis*, **6**, e1917.
- Dabo, A., Badawi, H. M., Bary, B. Doumbo, O. K., 2011: Urinary schistosomiasis among preschool-aged children in Sahelian rural communities in Mali. *Parasites & vectors*, **4**, 21.
- Davies, C. M., Webster, J. P., Kruger, O., Munatsi, A., Ndamba, J. Woolhouse, M. E., 1999: Host-parasite population genetics: a cross-sectional comparison of *Bulinus globosus* and *Schistosoma haematobium*. *Parasitology*, **119**, 295-302.
- De Clercq, D., Hanne, C. Vercruyse, J., 2000: Selected chemotherapy and seasonally transmitted *Schistosoma haematobium* infections in the middle valley of the Senegal River Basin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**, 198-199.

- De Clercq, D., Rollinson, D., Diarra, A., Sacko, M., Coulibaly, G., Landoure, A., Traore, M., Southgate, V. R., Kaukas, A. Vercruyse, J., 1994: Schistosomiasis in Dogon country, Mali: identification and prevalence of the species responsible for infection in the local community. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **88**, 653-656.
- De Clercq, D., Vercruyse, J., Kongs, A., Verle, P., Dompnier, J. P. Faye, P. C., 2002: Efficacy of artesunate and praziquantel in *Schistosoma haematobium* infected schoolchildren. *Acta tropica*, **82**, 61-66.
- De Clercq, D., Vercruyse, J., Picquet, M., Shaw, D. J., Diop, M., Ly, A. Gryseels, B., 1999: The epidemiology of a recent focus of mixed *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* infections around the 'Lac de Guiers' in the Senegal River Basin, Senegal. *TM & IH*, **4**, 544-550.
- De Vlas, S. J., Gryseels, B., Van Oortmarsen, G. J., Polderman, A. M. Habbema, J. D., 1992: A model for variations in single and repeated egg counts in *Schistosoma mansoni* infections. *Parasitology*, **104**, 451-460.
- Delaunay, V., Douillot, L., Diallo, A., Dione, D., Trape, J. F., Medianikov, O., Raoult, D. Sokhna, C., 2013: Profile: The Niakhar Health and Demographic Surveillance System. *International Journal of Epidemiology*, **42**, 1002-1011.
- Devkota, R., Budha, P. B. Gupta, R., 2011: Trematode cercariae infections in freshwater snails of Chitwan district, central Nepal. *Himalayan Journal of Science*, **7**, 10-13.
- Diallo, S., 1965: Les bilharzioses humaines au Sénégal. *Médecine*. Université Cheikh Anta Diop, Dakar.
- Diaw, O. T., 1980: Trematodoses dans le delta du Sénégal et le Lac de Guiers 1. Etude de la répartition des mollusques d'eau douce. *Bull Inst fond Afr Noire* **40**, 709-722.
- Diaw, O. T., 1984a: Epidémiologie des trématodoses du bétail et étude des mollusques hôtes intermédiaires dans le département de Tambacounda- Rapport de Synthèse. ISRA, Dakar.
- Diaw, O. T., 1984b: Présence de *Bulinus umblicatus* Mandahl Barth 1973 au Sénégal et son rôle épidémiologique. *Lettre circulaire nOI, 1984, de la Société Ouest Africaine de Parasitologie*. Service de Parasitologie, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar.
- Diaw, O. T., 1986: Rôle épidémiologique des mollusques dans la transmission des trématodoses humaines et animales au Sénégal. ISRA, Dakar.
- Diaw, O. T., 1997: *Population dynamics of schistosome intermediate host snails in a village in the delta of the Senegal River basin, Harare, Zimbabwe*
- Diaw, O. T. Diouf, A., 1979: Etude des trématodoses humaines et animales et de leurs hôtes intermédiaires. Rapport sur une mission effectuée dans les départements de Kaolack, Nioro du Rip, Foundiougne (région du Sine-Saloum). L.N.E.R/ ISRA/Service de Parasitologie, Dakar.
- Diaw, O. T., Ndir, O. Toupane, M. G., 1999a: *Guide de surveillance malacologique et de lutte contre les mollusques hôtes intermédiaires des bilharzioses*, p. 60. Ministère de la santé. Service national des grandes endémies.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1988a: Epidémiologie des trématodoses du bétail dans la région de Kolda, Casamance (Sénégal). *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **41** 257-264.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1988b: Resistance to drought of *Bulinus* molluscs, vectors of human and animal trematodosis in Senegal. I. Laboratory trials. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **41**, 289-291.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1989: Resistance to drought of mollusks of the genus *Bulinus*, vectors of human and animal trematode infections in Senegal. II. Study under natural

- conditions in the North-Sudan area. Ecology and resistance to drought of *Bulinus umbilicatus* and *B. senegalensis*. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **42**, 177-187.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1992a: Epidémiologie des trématodoses du bétail dans la région de Tambacounda (Senegal). LNERV, ISRA.
- Diaw, O. T., Seye, M. Sarr, Y., 1992b: Epidémiologie des trématodoses du bétail dans le Sine-Saloum (régions de Kaolack et de Fatick au Sénégal). ISRA, Dakar.
- Diaw, O. T. Vassiliades, G., 1987: Epidemiology of schistosomiasis in livestock in Senegal. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, **40**, 265-274.
- Diaw, O. T., Vassiliades, G., Barkle, N., Salam, M. L., Teko, G., Kubo, S. D. Dogba, K., 1990: Les Bilharzioses humaines et animales. Etude des mollusques vecteurs et lutte écologique et biologique. ISRA, Dakar.
- Doenhoff, M. J., Cioli, D. Utzinger, J., 2008: Praziquantel: mechanisms of action, resistance and new derivatives for schistosomiasis. *Curr Opin Infect Dis*, **21**, 659-667.
- Doumengué, J. P., Mott, K. E., Cheung, C., Villenave, D., Chapuis, O., Perrin, M. F. Reaud-Thomas, G., 1987: *Atlas of global distribution of schistosomiasis*. Presses Universitaires de Bordeaux, Geneva.
- Downs, J. A., Mguta, C., Kaatano, G. M., Mitchell, K. B., Bang, H., Simplicé, H., Kalluvya, S. E., Changalucha, J. M., Johnson, W. D Jr., Fitzgerald, D. W., 2011: Urogenital Schistosomiasis in Women of Reproductive Age in Tanzania's Lake Victoria Region. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **84**, 364-369.
- Duran, J. R. Lévêque, C., 1980: *Flore et faune aquatiques de l'Afrique Sahélo-Soudanienne*, p. 389. OSRTOM, Paris.
- Ekpo, U. F., Laja-Deile, A., Oluwole, A. S., Sam-Wobo, S. O. Mafiana, C. F., 2010: Urinary schistosomiasis among preschool children in a rural community near Abeokuta, Nigeria. *Parasites & vectors*, **3**, 58.
- Engels, D., Chistsulo, Montresor, A. Savioli, L., 2002: The global epidemiology situation of schistosomiasis and new approaches to control and research. *Acta tropica*, **82**, 139-146.
- Engels, D., Sinzinkayo, E. Gryseels, B., 1996: Day-to-day egg count fluctuation in *Schistosoma mansoni* infection and its operational implications. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **54**, 319-324.
- Ernould, J. C., 1996: Epidémiologie des schistosomoses humaines dans le delta du fleuve Sénégal. Phénomène récent de compétition entre *Schistosoma haematobium* (Bilanz. 1852) et *Schistosoma mansoni* (Sambon. 1907). *Parasitologie*. Université Paris XII, Paris.
- Ernould, J. C., 1998: Aménagements hydro-agricoles et santé (vallée du fleuve Sénégal). In: H. Jean-Pierre and B. Jacques (eds.), *Eau et Santé*. ORSTOM, Paris.
- Ernould, J. C., Garba, A., Labbo, R., Kaman, A. K., Sidiki, A., Djibrilla, A. Chippaux, J. P., 2004: Heterogeneity of *Schistosoma haematobium* transmission in irrigated fields. *Bull Soc Pathol Exot*, **97**, 19-23.
- Etard, J. F., Audibert, M. Dabo, A., 1995: Age-acquired resistance and predisposition to reinfection with *Schistosoma haematobium* after treatment with praziquantel in Mali. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **52**, 549-558.
- Fain, A., 1972: Biology and life cycle of schistosomes. *Acta gastro-enterologica Belgica*, **35**, 277-284.
- Feldmeier, H. Poggensee, G., 1993: Diagnostic techniques in schistosomiasis control. A review. *Acta tropica*, **52**, 205-220.
- Fenwick, A., Rollinson, D. Southgate, V., 2006: Implementation of human schistosomiasis control: Challenges and prospects. *Advances in parasitology*, **61**, 567-622.

- Fenwick, A., Savioli, L., Engels, D., Bergquist, N. R. Todd, M. H., 2003: Drugs for the control of parasitic diseases: current status and development in schistosomiasis. *Trends in parasitology*, **19**, 509-515.
- Frandsen, F. Christensen, N. O., 1984: An introductory guide to the identification of cercariae from African freshwater snails with special reference to cercariae of trematode species of medical and veterinary importance. *Acta tropica*, **41**, 181-202.
- GAHI, 2011: Distribution of *S. haematobium* survey data in Senegal. Available at: <http://www.thiswormyworld.org/fr/maps/2013/distribution-of-s-haematobium-survey-data-in-senegal> (accessed 23/09/14).
- Garba, A., Barkire, N., Djibo, A., Lamine, M. S., Sofu, B., Gouvras, A. N., Bosque-Oliva, E., Webster, J. P., Stothard, J. R., Utzinger, J. Fenwick, A., 2010: Schistosomiasis in infants and preschool-aged children: Infection in a single *Schistosoma haematobium* and a mixed *S. haematobium*-*S. mansoni* foci of Niger. *Acta tropica*, **115**, 212-219.
- Garba, A., Campagne, G., Tassie, J. M., Barkire, A., Vera, C., Sellin, B. Chippaux, J. P., 2004: Long-term impact of a mass treatment by praziquantel on morbidity due to *Schistosoma haematobium* in two hyperendemic villages of Niger. *Bull Soc Pathol Exot*, **97**, 7-11.
- Garba, A., Kinde-Gazard, D., Makoutode, M., Boyer, N., Ernould, J. C., Chippaux, J. P. Massougoudji, A., 2000: Preliminary evaluation of morbidity due to *S. haematobium* and *S. mansoni* in the area of the future Adjarala Dam in Benin. *Sante*, **10**, 323-328.
- Garba, A., Lamine, M. S., Djibo, A., Tahirou, A., Aouami, M. A., Alfari, A., Phillips, A. E., Fenwick, A. Utzinger, J., 2013: Safety and efficacy of praziquantel syrup (Epiquantel(R)) against *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* in preschool-aged children in Niger. *Acta tropica*, **128**, 318-325.
- Garba, A., Toure, S., Dembele, R., Bosque-Oliva, E. Fenwick, A., 2006: Implementation of national schistosomiasis control programmes in West Africa. *Trends in parasitology*, **22**, 322-326.
- Gaye, O., Diallo, S., Ndir, O., Bah, I., Ndiaye, A. Faye, O., 1991: Epidémiologie des endémies parasitaires dans la région du barrage anti-sel de Bignona (Sénégal). *Dakar Medicale*, **39**, 139-144.
- Gentilini, M., comes, E., Danis, M., Mouchet, J., Duflo, B., Lagardère, B., Richard-Lenoble, D. Brucker, G., 1993: *Médecine tropicale*, p. 928. Flammarion, Paris.
- Goll, P. H., Wilkins, H. A., 1984: Field studies on *Bulinus senegalensis* Muller and the transmission of *Schistosoma haematobium* infection in a Gambian community. *Tropenmedizin und Parasitologie*, **35**, 29-36.
- Goll, P. H., Wilkins, H. A. Marshall, T. F., 1984: Dynamics of *Schistosoma haematobium* infection in a Gambian community. II. The effect on transmission of the control of *Bulinus senegalensis* by the use of niclosamide. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **78**, 222-226.
- Golvan, Y. J., 1983: *Eléments de parasitologie médicale*. Flammarion, Paris.
- Greer, G. J., Mimpfoundi, R., Malek, E. A., Joky, A., Ngonseu, E. Ratard, R. C., 1990: Human schistosomiasis in Cameroon. II. Distribution of the snail hosts. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **42**, 573-580.
- Gryseels, B., 1988: The morbidity of schistosomiasis mansoni in the Rusizi Plain (Burundi). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **82**, 582-587.
- Gryseels, B., 1996: Uncertainties in the epidemiology and control of schistosomiasis. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **55**, 103-108.
- Gryseels, B., Polman, K., Clerinx, J. Kestens, L., 2006: Human schistosomiasis. *Lancet*, **368**, 1106-1118.

- Guidi, A., Andolina, C., Makame Ame, S., Albonico, M., Cioli, D. Juma Haji, H., 2010: Praziquantel efficacy and long-term appraisal of schistosomiasis control in Pemba Island. *Trop Med Int Health*, **15**, 614-618.
- Hamburger, J., He, N., Abbasi, I., Ramzy, R. M., Jourdane, J. Ruppel, A., 2001: Polymerase chain reaction assay based on a highly repeated sequence of *Schistosoma haematobium* : a potential tool for monitoring schistosome-infested water. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **65**, 907-911.
- Hamburger, J., Hoffman, O., Kariuki, H. C., Muchiri, E. M., Ouma, J. H., Koech, D. K., Sturrock, R. F. King, C. H., 2004: Large-scale, polymerase chain reaction-based surveillance of *Schistosoma haematobium* DNA in snails from transmission sites in coastal Kenya : a new tool for studying the dynamics of snail infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **71**, 765-773.
- Hamburger, J., Weil, M., Turetzky, T., Ouma, J. H., Koech, D. K., Klumpp, R., Siongok, T. K. Sturrock, R. F., 1989 : Identification of snails infected with schistosomes by ELISA employing monoclonal antibodies : *Schistosoma mansoni* in laboratory snails (*Biomphalaria glabrata*) and in field snails (*Biomphalaria pfeifferi*) from Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **40**, 613-619.
- Hatz, C. F., Vennervald, B. J., Nkulila, T., Vounatsou, P., Kombe, Y., Mayombana, C., Mshinda, H. Tanner, M., 1998: Evolution of *Schistosoma haematobium*-related pathology over 24 months after treatment with praziquantel among school children in southeastern Tanzania. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **59**, 775-781.
- Hotez, P. J., Molyneux, D. H., Fenwick, A., Ottesen, E., Ehrlich Sachs, S. Sachs, J. D., 2006a: Incorporating a rapid-impact package for neglected tropical diseases with programs for HIV/AIDS, tuberculosis, and malaria. *Plos Med*, **3**, e102.
- Hotez, P. J., Molyneux, D. H., Stillwaggon, E., Bentwich, Z. Kumaresan, J., 2006b: Neglected tropical diseases and HIV/AIDS. *Lancet*, **368**, 1865-1866.
- IARC, 1994: Schistosomes, liver flukes and Helicobacter pylori. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. World Health Organisation, Geneva.
- Ibrahim, A., King, C. H., Muchiri, E. M. Hamburger, J. S., 2010: Detection of *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium* DNA by Loop-Mediated Isothermal Amplification: Identification of Infected Snails from Early Prepatency. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **83**, 427-432.
- Jelnes, J. E., 1979: Taxonomic studies of *Bulinus* using isoenzyme electrophoresis with special reference to the africanus group on the Kano plain, Kenya. *Malacologia*, **18**.
- Jelnes, J. E., 1985: Experimental taxonomy of *Bulinus* - past and future activities. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening i Kobenhavn* **46**, 85-100
- Jones, C. S., Rollinson, D., Mimpfoundi, R., Ouma, J., Kariuki, H. C. Noble, L. R., 2001: Molecular evolution of freshwater snail intermediate hosts within the *Bulinus forskalii* group. *Parasitology*, **123 Suppl**, S277-292.
- Jordan, P., Webbe, G. Sturrock, F., 1993: *Human Schistosomiasis*. CAB Internationnal, Wallingford.
- Jourdane, J., 1982: Study of the mechanisms of rejection in incompatible mollusk-schistosome pairs from infestations by means of a natural route or by microsurgical transplantations of parasitic stages. *Acta tropica*, **39**, 325-335.
- Kahama, A. I., Vennervald, B. J., Kombe, Y., Kihara, R. W., Ndzovu, M., Mungai, P. Ouma, J. H., 1999: Parameters associated with *Schistosoma haematobium* infection before and after chemotherapy in school children from two villages in the coast province of Kenya. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, **4**, 335-340.

- Kane, R. A., Stothard, J. R., Emery, A. M. Rollinson, D., 2008: Molecular characterization of freshwater snails in the genus *Bulinus*: a role for barcodes? *Parasites & vectors*, **1**, 15.
- Kariuki, H. C., Madsen, H., Ouma, J. H., Butterworth, A. E., Dunne, D. W., Booth, M., Kimani, G., Mwatha, J. K., Muchiri, E. Vennervald, B. J., 2013: Long term study on the effect of mollusciciding with niclosamide in stream habitats on the transmission of schistosomiasis mansoni after community-based chemotherapy in Makueni District, Kenya. *Parasites & vectors*, **6**, 107.
- King, C. H., 2006: Long-term outcomes of school-based treatment for control of urinary schistosomiasis: a review of experience in Coast Province, Kenya. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **101 Suppl 1**, 299-306.
- King, C. H., Muchiri, E., Ouma, J. H. Koech, D., 1991: Chemotherapy-based control of schistosomiasis haematobia. IV. Impact of repeated annual chemotherapy on prevalence and intensity of *Schistosoma haematobium* infection in an endemic area of Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **45**, 498-508.
- King, C. H., Muchiri, E. M. Ouma, J. H., 1992: Age-targeted chemotherapy for control of urinary schistosomiasis in endemic populations. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **87 Suppl 4**, 203-210.
- King, C. H., Sturrock, R. F., Kariuki, H. C. Hamburger, J., 2006: Transmission control for schistosomiasis - why it matters now. *Trends in parasitology*, **22**, 575-582.
- Kirkwood, B. R., Sterne, J. A., 2003: *Essential medical statistics*. Wiley-Blackwell, Oxford.
- Koukounari, A., Gabrielli, A. F., Toure, S., Bosque-Oliva, E., Zhang, Y., Sellin, B., Donnelly, C. A., Fenwick, A. Webster, J. P., 2007: *Schistosoma haematobium* infection and morbidity before and after large-scale administration of praziquantel in Burkina Faso. *The Journal of Infectious Diseases*, **196**, 65-69.
- Ladan, M. U., Abubakar, U., Abdullah, K., Bunza, M. D. A. Ladan, M. J., 2012: Urinary schistosomiasis in selected villages around Gusau Dam Site, Zamfara State, Nigeria. *Niger J Basic Appl Sci*, **20**, 189-194.
- Landoure, A., Dembele, R., Goita, S., Kane, M., Tuinsma, M., Sacko, M., Toubali, E., French, M. D., Keita, A. D., Fenwick, A., Traore, M. S. Zhang, Y., 2012: Significantly reduced intensity of infection but persistent prevalence of schistosomiasis in a highly endemic region in Mali after repeated treatment. *PLoS Negl Trop Dis*, **6**, e1774.
- Le Bras, M., Faucher, P., Giap, G., Meric, D., Commenges, D., Villenave, D., Camara, S., Gatheron, C. Appriou, M., 1982: Human activities, hydro-agricultural management and urinary schistosomiasis. Methodological approach and results (a preliminary study in Upper-Volta). *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, **75**, 44-54.
- Lee, P. G., Rodrick, G. E., Sodeman, W. A. Blake, N. J., 1982: The giant Malaysian prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, a potential predator for controlling the spread of schistosome vector snails in fish ponds. *Aquaculture*, **28**, 293-301.
- Lengeler, C., Utzinger, J. Tanner, M., 2002: Questionnaires for rapid screening of schistosomiasis in sub-Saharan Africa. *Bulletin of the World Health Organization*, **80**, 235-242.
- Levi, P., Adyamagbo, A., 2003: *Tableau de bord des principaux indicateurs sociodémographiques dans la zone de Niakhar (Sénégal)*. IRD, Dakar.
- Magnussen, P., 2003: Treatment and re-treatment strategies for schistosomiasis control in different epidemiological settings: a review of 10 years' experiences. *Acta tropica*, **86**, 243-254.
- Magnussen, P., Ndawi, B., Sheshe, A. K., Byskov, J., Mbwana, K. Christensen, N. O., 2001: The impact of a school health programme on the prevalence and morbidity of urinary

- schistosomiasis in Mwera Division, Pangani District, Tanzania. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **95**, 58-64.
- Mandahl-Barth, G., 1973: Descriptions of new species of African freshwater molluscs. *Proc malac Soc Lond*, **40**, 277.
- Marchand, B., 1994: *Les aniamux parasites: biologie et systématique*, p. 294. NEAS, Dakar.
- McManus, D. P., Loukas, A., 2008: Current status of vaccines for schistosomiasis. *Clinical microbiology reviews*, **21**, 225-242.
- Mekonnen, A., Legesse, M., Mulugeta, B., Konjit, T., Workineh, T., Zelalem, T. Erko, B., 2013: Efficacy of Praziquantel against *Schistosoma haematobium* in Dulshatalo village, western Ethiopia. *BMC research notes*, **6**, 392.
- Midzi, N., Sangweme, D., Zinyowera, S., Mapingure, M. P., Brouwer, K. C., Kumar, N., Mutapi, F., Woelk, G. Mduluza, T., 2008: Efficacy and side effects of praziquantel treatment against *Schistosoma haematobium* infection among primary school children in Zimbabwe. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **102**, 759-766.
- Mott, K. E., 1983: A reusable polyamide filter for diagnosis of *S. haematobium* infection by urine filtration. *Bulletin de la Societe de pathologie exotique et de ses filiales*, **76**, 101-104.
- Mott, K. E., Desjeux, P., Moncayo, A., Ranque, P. de Raadt, P., 1990: Parasitic diseases and urban development. *Bulletin of the World Health Organization*, **68**, 691-698.
- Mouchet, F., Theron, A., Bremond, P., Sellin, E. Sellin, B., 1992: Pattern of cercarial emergence of *Schistosoma curassoni* from Niger and comparison with three sympatric species of schistosomes. *The Journal of parasitology*, **78**, 61-63.
- Murinello, A., Germano, N., Mendonça, P., Campos, C. Grácio, A., 2006: Liver disease due to *Schistosoma guineensis* - a review. *J Port Gastrenterol*, **13**, 97-104.
- Mutapi, F., Rujeni, N., Bourke, C., Mitchell, K., Appleby, L., Nausch, N., Midzi, N. Mduluza, T., 2011: *Schistosoma haematobium* treatment in 1-5 year old children: safety and efficacy of the antihelminthic drug praziquantel. *PLoS Negl Trop Dis*, **5**, e1143.
- N'Goran, E. K., Gnaka, H. N., Tanner, M. Utzinger, J., 2003: Efficacy and side-effects of two praziquantel treatments against *Schistosoma haematobium* infection, among schoolchildren from Cote d'Ivoire. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **97**, 37-51.
- N'Goran, E. K., Utzinger, J., N'Guessan, A. N., Muller, I., Zamble, K., Lohourignon, K. L., Traore, M., Sosthene, B. A., Lengeler, C. Tanner, M., 2001: Reinfection with *Schistosoma haematobium* following school-based chemotherapy with praziquantel in four highly endemic villages in Cote d'Ivoire. *TM & IH*, **6**, 817-825.
- Ndao, B., Senghor, C. S., Sy, I., Barbier, D., Georges, P., Diedhiou, K., Talla, I., Dewavrin, P. Klotz, F., 2014: Can we overcome schistosomiasis? A Senegalese example. *Bull Soc Pathol Exot*.
- Ndiaye, O., Hesran, J. Y., Etard, J. F., Diallo, A., Simondon, F., Ward, M. N. Robert, V., 2001: Climate variability and number of deaths attributable to malaria in the Niakhar area, Senegal, from 1984 to 1996. *Sante*, **11**, 25-33.
- Ndir, O., 2000: Situation des Schistosomoses au Sénégal. In: J. P. Chippaux (ed.), *La lutte contre les Schistosomoses en Afrique de l'Ouest*. IRD, Paris.
- Ndir, O., Baïdy, L. O., Dabo, A. Loua, K. M., 2010: Etude de base pour déterminer la prevalence et l'intensité des schistosomiasés et des géohelminthiasés dans le bassin du fleuve Sénégal. Première partie : cartographie de la prevalence. Université cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar.

- Nkengazong, L., Njiokou, F. Asonganyi, T., 2013: Two years impact of single praziquantel treatment on urinary schistosomiasis in the Barombi Kotto focus, South West Cameroon. *J Parasitol Vect Biol*, **5**, 83–89.
- OMS, 1985: Lutte contre la schistosomiase. Organisation mondiale de la santé, Genève.
- Picquet, M., Ernoult, J. C., Vercruyse, J., Southgate, V. R., Mbaye, A., Sambou, B., Niang, M. Rollinson, D., 1996: The epidemiology of human schistosomiasis in the Senegal river basin. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **90**, 340-346.
- Plouvier, S., Leroy, J. C. Colette, J., 1975: A propos d'une technique simple de filtration des urines dans le diagnostic de la bilharziose urinaire en enquête de masse. *Med Trop*, **35**, 229–230.
- Poggensee, G., Krantz, I., Nordin, P., Mtweve, S., Ahlberg, B., Mosha, G. Freudenthal, S., 2005: A six-year follow-up of schoolchildren for urinary and intestinal schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Northern Tanzania. *Acta tropica*, **93**, 131-140.
- Pointier, J. P., Guyard, A. Mosser, A., 1989: Biological control of *Biomphalaria glabrata* and *B. straminea* by the competitor snail *Thiara tuberculata* in a transmission site of schistosomiasis in Martinique, French West Indies. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **83**, 263-269.
- Pontes, L. A., Oliveira, M. C., Katz, N., Dias-Neto, E. Rabello, A., 2003: Comparison of a polymerase chain reaction and the Kato-Katz technique for diagnosing infection with *Schistosoma mansoni*. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **68**, 652-656.
- Quinnell, R. J., 2003: Genetics of susceptibility to human helminth infection. *International journal for parasitology*, **33**, 1219-1231.
- Raahauge, P., Kristensen, T. K., 2000: A comparison of *Bulinus africanus* group species (Planorbidae; Gastropoda) by use of the internal transcribed spacer 1 region combined by morphological and anatomical characters. *Acta tropica*, **75**, 85-94.
- Rabello, A. L., Garcia, M. M., Pinto da Silva, R. A., Rocha, R. S. Katz, N., 1997: Humoral immune responses in patients with acute *Schistosoma mansoni* infection who were followed up for two years after treatment. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, **24**, 304–308.
- Rollinson, D., Southgate, V. R., 1979: Enzyme analyses of *Bulinus africanus* group snails (Mollusca: Planorbidae) from Tanzania. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **73**, 667-672.
- Rollinson, D., Stothard, J. R., Southgate, V. R., 2001: Interactions between intermediate snail hosts of the genus *Bulinus* and schistosomes of the *Schistosoma haematobium* group. *Parasitology*, **123 Suppl**, S245-260.
- Rollinson, D., Wright, C. A., 1984: Populations studies on *Bulinus cernicus* from Mauritius. *Malacologia*, **25**, 447-463.
- Ross, A. G., Bartley, P. B., Sleight, A. C., Olds, G. R., Li, Y., Williams, G. M. McManus, D. P., 2002: Schistosomiasis. *The New England journal of medicine*, **346**, 1212-1220.
- Rumnajek, F., 1987: Biochemistry and physiology. In: D. Rollinson and A. J. D. Simpson (eds.), *The biology of Schistosomes*. Academic Press, London, UK.
- Sabah, A. A., Fletcher, C., Webbe, G. Doenhoff, M. J., 1986: *Schistosoma mansoni* : chemotherapy of infections of different ages. *Experimental parasitology*, **61**, 294-303.
- Saladin, B., Saladin, K., Holzer, B., Dennis, E., Hanson, A. Degremont, A., 1983: A pilot control trial of schistosomiasis in central Liberia by mass chemotherapy of target populations, combined with focal application of molluscicide. *Acta tropica*, **40**, 271-295.

- Savioli, L., Engels, D., ROUNGOU, J. B., Fenwick, A., Endo, H., 2004: Schistosomiasis control. *Lancet*, **363**, 658.
- Savioli, L., Hatz, C., Dixon, H., Kisumku, U. M., Mott, K. E., 1990: Control of morbidity due to *Schistosoma haematobium* on Pemba Island: egg excretion and hematuria as indicators of infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, **43**, 289-295.
- Schmid-hempel, 1998: Parasites and flower choice of bumblebees. *Anim Behav*, **55**, 819-825.
- Schur, N., Hurlimann, E., Garba, A., Traore, M. S., Ndir, O., Ratard, R. C., Tchuem Tchuente, L. A., Kristensen, T. K., Utzinger, J., Vounatsou, P., 2011: Geostatistical model-based estimates of Schistosomiasis prevalence among individuals aged ≤ 20 years in West Africa. *PLoS Negl Trop Dis*, **5**, e1194.
- Seck, I., Faye, A., Gning, B., Tal-Dia, A., 2007: La prévalence de la bilharziose urinaire et ses facteurs de risques en milieu scolaire rural à Fatick, au Sénégal. *Médecine d'Afrique Noire*, **54**, 125-131.
- Sène, M., Southgate, V. R., Vercruyse, J., 2004: *Bulinus truncatus*, hôte intermédiaire de *Schistosoma haematobium* dans le bassin du fleuve Sénégal. *Bull Soc Pathol Exot*, **97**, 29-32.
- Senghor, B., Diallo, A., Sylla, S. N., Doucoure, S., Ndiath, M. O., Gaayeb, L., Djuikwo-Teukeng, F. F., Ba, C. T., Sokhna, C., 2014a: Prevalence and intensity of urinary schistosomiasis among school children in the district of Niakhar, region of Fatick, Senegal. *Parasit Vectors*, **7**, 5.
- Senghor, B., Diaw, O. T., Doucoure, S., Sylla, S. N., Seye, M. M., Talla, I., Bâ, C. T., Diallo, A., Sokhna, C., 2014b: Efficacy of Praziquantel Treatment against Urinary Schistosomiasis and its Impact on the Occurrence of Re-infection in School Children in Niakhar, Senegal, a Single Seasonally Transmission Focus. *Plos One*, In press.
- Shaw, D. J., Vercruyse, J., Picquet, M., Sambou, B., Ly, A., 1999: The effect of different treatment regimens on the epidemiology of seasonally transmitted *Schistosoma haematobium* infections in four villages in the Senegal River Basin, Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **93**, 142-150.
- Smithers, S. R., 1956: On the ecology of schistosome vectors in the Gambia, with evidence of their role in transmission. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **50**, 354-365.
- Sokolow, S. H., Lafferty, K. D., Kurisa, A. M., 2013: Regulation of laboratory populations of snails (*Biomphalaria* and *Bulinus* spp.) by river prawns, *Macrobrachium* sp. (Decapoda, Palaemonidae): Implications for control of schistosomiasis. *Acta tropica*, **132**, 64-74.
- Standley, C. J., Adriko, M., Arinaitwe, M., Atuhaire, A., Kazibwe, F., Fenwick, A., Kabatereine, N. B., Stothard, J. R., 2010: Epidemiology and control of intestinal schistosomiasis on the Sesse Islands, Uganda: integrating malacology and parasitology to tailor local treatment recommendations. *Parasites & vectors*, **3**, 64.
- Steinmann, P., Keiser, J., Bos, R., Tanner, M., Utzinger, J., 2006: Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *The Lancet. Infectious diseases*, **6**, 411-425.
- Stelma, F., Talla, I., Sow, S., Kongs, A., Niang, M., Polman, K., Deelder, A., Gryseels, B., 1995: Efficacy and side effects of praziquantel in an epidemic focus of *Schistosoma mansoni*. *Am JTrop Med Hyg*, **53**, 167-170.
- Stothard, I. R., Rollinson, D., 1997: Molecular characterization of *Bulinus globosus* and *B. nasutus* on Zanzibar, and an investigation of their roles in the epidemiology of *Schistosoma haematobium*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **91**, 353-357.

- Stothard, J. R., Ameri, H., Khamis, I. S., Blair, L., Nyandindi, U. S., Kane, R. A., Johnston, D. A., Webster, B. L. Rollinson, D., 2013: Parasitological and malacological surveys reveal urogenital schistosomiasis on Mafia Island, Tanzania to be an imported infection. *Acta tropica*, **128**, 326-333.
- Stothard, J. R., Bremond, P., Andriamaro, L., Sellin, B., Sellin, E. Rollinson, D., 2001: *Bulinus* species on Madagascar: molecular evolution, genetic markers and compatibility with *Schistosoma haematobium*. *Parasitology*, **123 Suppl**, S261-275.
- Stothard, J. R., Lewellyn-Hughes, J., Griffin, C. E., Hubbard, S. J., Kristensen, T. K. Rollinson, D., 2002: Identification of snails within the *Bulinus africanus* group from East Africa by Multiplex SNaPshot analysis of single nucleotide polymorphisms within the cytochrome oxidase subunit I. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **97**, 31-36.
- Sturrock, R. F., Diaw, O. T., Talla, I., Niang, M., Piau, J. P. Capron, A., 2001: Seasonality in the transmission of schistosomiasis and in populations of its snail intermediate hosts in and around a sugar irrigation scheme at Richard Toll, Senegal. *Parasitology*, **123 Suppl**, S77-89.
- Sy, I., Diawara, L., Ngabo, D., Barbier, D., Dreyfuss, G. Georges, P., 2008: Schistosomiasis in school children in the Bandafassi region of East Senegal. *Medecine tropicale : revue du Corps de sante colonial*, **68**, 267-271.
- Talla, I., Kongs, A., Verle, P., Belot, J., Sarr, S. Coll, A. M., 1990: Outbreak of intestinal schistosomiasis in the Senegal River Basin. *Annales de la Societe belge de medecine tropicale*, **70**, 173-180.
- Tchuem Tchuente, L. A., Momo, S. C., Stothard, J. R. Rollinson, D., 2013: Efficacy of praziquantel and reinfection patterns in single and mixed infection foci for intestinal and urogenital schistosomiasis in Cameroon. *Acta tropica*, **128**, 275-283.
- Teckla, A., Shahada, F., Kassuku, A., Mazigo, H., Kariuki, C., Anouk, G., Rollinson, D. Kinung'hi, S., 2014: Population abundance and disease transmission potential of snail intermediate hosts of human schistosomiasis in fishing Communities of Mwanza region, North western, Tanzania. *International Journal of Science and Research*, **3** 1230-1236.
- ten Hove, R. J., Verweij, J. J., Vereecken, K., Polman, K., Dieye, L. van Lieshout, L., 2008: Multiplex real-time PCR for the detection and quantification of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* infection in stool samples collected in northern Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **102**, 179-185.
- Thiam, I., 1993: Bilharziose urinaire dans la zone du Ferlo : études menées à Barkédji dans le département de Linguère. *Faculté de Médecine*. Université Cheikh Anta Diop, Dakar.
- Toure, S., Zhang, Y., Bosque-Oliva, E., Ky, C., Ouedraogo, A., Koukounari, A., Gabrielli, A. F., Bertrand, S., Webster, J. P. Fenwick, A., 2008: Two-year impact of single praziquantel treatment on infection in the national control programme on schistosomiasis in Burkina Faso. *Bulletin of the World Health Organization*, **86**, 780-787, A.
- Ugbomoiko, U. S., Ofoezie, I. E., Okoye, I. C. Heukelbach, J., 2010: Factors associated with urinary schistosomiasis in two peri-urban communities in south-western Nigeria. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **104**, 409-419.
- Utzing, J., Bergquist, R., Shu-Hua, X., Singer, B. H. Tanner, M., 2003: Sustainable schistosomiasis control--the way forward. *Lancet*, **362**, 1932-1934.
- Utzing, J., N'Goran, E. K., N'Dri, A., Lengeler, C. Tanner, M., 2000: Efficacy of praziquantel against *Schistosoma mansoni* with particular consideration for intensity of infection. *Trop Med Int Health*, **5**, 771-778.

- Utzinger, J., Raso, G., Brooker, S., De Savigny, D., Tanner, M., Ornberg, N., Singer, B. H. N'Goran E, K., 2009: Schistosomiasis and neglected tropical diseases: towards integrated and sustainable control and a word of caution. *Parasitology*, **136**, 1859-1874.
- van der Werf, M. J., de Vlas, S. J., Brooker, S., Looman, C. W. N., Nagelkerke, N. J. D., Habbema, J. D. F. Engels, D., 2003: Quantification of clinical morbidity associated with schistosome infection in sub-Saharan Africa. *Acta tropica*, **86**, 125–139.
- van Lieshout, L., Polderman, A. M. Deelder, A. M., 2000: Immunodiagnosis of schistosomiasis by determination of the circulating antigens CAA and CCA, in particular in individuals with recent or light infections. *Acta tropica*, **77**, 69-80.
- Vera, C., Mouchet, F., Bremon, P., Sidiki, A., Sellin, E. Sellin, B., 1989: Potentialités de transmission de *Schistosoma haematobium* dans un foyer à mares temporaires de zone sahélienne au Niger où les prévalences et les oviuries sont faibles. OCCGE Niamey.
- Vercruyse, J., 1990: Schistosoma species in Senegal with special reference to the biology, epidemiology and pathology of *Schistosoma curassoni* Brumpt, 1931. *Verhandelingen - Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België*, **52**, 31-68.
- Vercruyse, J., Southgate, V. R. Rollinson, D., 1985: The epidemiology of human and animal schistosomiasis in the Senegal River Basin. *Acta tropica*, **42**, 249-259.
- Vercruyse, J., Southgate, V. R., Rollinson, D., De Clercq, D., Sacko, M., De Bont, J. Mungomba, L. M., 1994: Studies on transmission and schistosome interactions in Senegal, Mali and Zambia. *Tropical and geographical medicine*, **46**, 220-226.
- Verle, P., Stelma, F., Desreumaux, P., Dieng, A., Diaw, O., Kongs, A., Niang, M., Sow, S., Talla, I., Sturrock, R. F. et al., 1994: Preliminary study of urinary schistosomiasis in a village in the delta of the Senegal river basin, Senegal. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **88**, 401-405.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijmans, M., van de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. et al., 1995: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic acids research*, **23**, 4407-4414.
- Walker, A. J., 2011: Insights into the functional biology of schistosomes. *Parasites & vectors*, **4**, 203.
- Wang, W., Wang, L. Liang, Y. S., 2012: Susceptibility or resistance of praziquantel in human schistosomiasis: a review. *Parasitology research*, **111**, 871–1877.
- Webbe, G. Msangi, A. S., 1958: Observations on three species of *Bulinus* on the east coast of Africa. *Annals of tropical medicine and parasitology*, **52**, 302-314.
- Webster, B. L., Diaw, O. T., Seye, M. M., Faye, D. S., Stothard, J. R., Sousa-Figueiredo, J. C. Rollinson, D., 2013: Praziquantel treatment of school children from single and mixed infection foci of intestinal and urogenital schistosomiasis along the Senegal River Basin: monitoring treatment success and re-infection patterns. *Acta tropica*, **128**, 292-302.
- Webster, B. L., Southgate, V. R. Littlewood, D. T., 2006: A revision of the interrelationships of *Schistosoma* including the recently described *Schistosoma guineensis*. *International journal for parasitology*, **36**, 947-955.
- WHO, 2002: Prevention and control of schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis., *Technical report series*. World Health Organisation, Geneva.
- WHO, 2006: *Preventive chemotherapy in human helminthiasis: coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers*. World Health Organization, Geneva.
- Wilkins, H. A., 1989: Reinfection after treatment of schistosome infections. *Parasitology today*, **5**, 83-88.

- Wilkins, H. A., Blumenthal, U. J., Hagan, P., Hayes, R. J. Tulloch, S., 1987: Resistance to reinfection after treatment of urinary schistosomiasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, **81**, 29-35.
- Wilkins, H. A., Goll, P. H., Marshall, T. F. Moore, P. J., 1984: Dynamics of *Schistosoma haematobium* infection in a Gambian community. I. The pattern of human infection in the study area. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **78**, 216-221.
- Zhang, Y., Koukounari, A., Kabatereine, N., Fleming, F., Kazibwe, F., Tukahebwa, E., Stothard, J. R., Webster, J. P. Fenwick, A., 2007: Parasitological impact of 2-year preventive chemotherapy on schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis in Uganda. *BMC medicine*, **5**, 27.

ANNEXES

Annexe 1

Rima Zein Eddine, Félicité F. Djuikwo-Teukeng, Mustafa Al Jawhari, **Bruno Senghor**
Tine Huyse, Gilles Dreyfuss. **Phylogeny of seven *Bulinus* species originating from endemic areas in three African 1 countries, in relation to the human blood fluke *Schistosoma haematobium*. *BMC Evolutionary Biology* (2014) 14:271.**

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Phylogeny of seven *Bulinus* species originating from endemic areas in three African countries, in relation to the human blood fluke *Schistosoma haematobium*

Rima Zein-Eddine^{1*}, Félicité Flore Djuikwo-Teukeng^{1,2}, Mustafa Al-Jawhani³, Bruno Senghor⁴, Tiné Huyse⁵ and Gilles Dreyfuss¹

Abstract

Background: Snails species belonging to the genus *Bulinus* (Planorbidae) serve as intermediate host for flukes belonging to the genus *Schistosoma* (Digenea, Platyhelminthes). Despite its importance in the transmission of these parasites, the evolutionary history of this genus is still obscure. In the present study, we used the partial mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene, and the nuclear ribosomal ITS, 18S and 28S genes to investigate the haplotype diversity and phylogeny of seven *Bulinus* species originating from three endemic countries in Africa (Cameroon, Senegal and Egypt).

Results: The cox1 region showed much more variation than the ribosomal markers within *Bulinus* sequences. High levels of genetic diversity were detected at all loci in the seven studied species, with clear segregation between individuals and appearance of different haplotypes, even within same species from the same locality. Sequences clustered into two lineages: (A) groups *Bulinus truncatus*, *B. tropicus*, *B. globosus* and *B. umbilicatus*; while (B) groups *B. forskalii*, *B. senegalensis* and *B. camerunensis*. Interesting patterns emerge regarding schistosome susceptibility. *Bulinus* species with lower genetic diversity are predicted to have higher infection prevalence than those with greater diversity in host susceptibility.

Conclusion: The results reported in this study are very important since a detailed understanding of the population genetic structure of *Bulinus* is essential to understand the epidemiology of many schistosome parasites.

Keywords: *Bulinus* species, *Schistosoma haematobium*, Phylogeny, Genetic diversity, Host-parasite interactions

Background

Snails of the genus *Bulinus* (Müller, 1781) serve as intermediate hosts for larval development of the parasite species belonging to the *Schistosoma haematobium* species group in Africa, the Eastern Mediterranean and Madagascar [1], as for other Trematode species like paramphistomes. The *S. haematobium* blood flukes are responsible for 112 million infections in Africa with an incidence exceeding 50% in some communities [2]. The

geographic distribution of these parasites is determined by the presence of their intermediate hosts [3]. Indeed, members of the *Bulinus* genus have an extensive distribution throughout Africa, some areas of the Middle East and the Mediterranean countries [4]. It is divided into four species groups: *B. africanus*, *B. forskalii*, *B. reticulatus* and the *B. truncatus/tropicus* complex [5]. Among the 37 species that compose these four groups, several are known or suspected to act as intermediate hosts for larval stages of the *Schistosoma* parasites. However, the role of each species in the transmission of the disease varies considerably between and within countries [4]. For example, in Cameroon *B. truncatus* is more implicated than *B. globosus* in the transmission of urinary schistosomiasis

* Correspondence: rima_zn@hotmail.com

¹Institute of Neuroepidemiology and Tropical Parasitology INSERM UMR 1094, Faculties of Medicine and Pharmacy, 2 Docteur Raymond Marcland Street, 87025 Limoges, France
Full list of author information is available at the end of the article



© 2014 Zein-Eddine et al.; licensee BioMed Central. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly credited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

[6], while this is not the case in Senegal, where *B. globosus*, *B. senegalensis* and *B. umbilicatus* are known as the main intermediate hosts for *S. haematobium* [7].

The interpretation of these specific snail-parasite relationships requires a deeper understanding of the past events that have affected the population diversity and distribution of *Bulinus* species. Furthermore, such information is essential for assessing the geographical distribution of variation in genes associated with resistance in bulinid snails. Previous studies showed that the above four *Bulinus* species groups were stable throughout the majority of phylogenetic analyses and demonstrated the monophyletic status of these groups with both variable and highly conserved genes [8–10]. However, these studies were restricted to the basic phylogenetic level and no phylogeographic studies including estimates of haplotype and nucleotide diversity were performed.

In this investigation, we used a suite of population genetic and phylogenetic analyses to characterize populations of seven *Bulinus* species collected from endemic areas in three African countries (Cameroon, Senegal and Egypt), using one mitochondrial gene (the protein coding cytochrome oxidase subunit I (cox1) gene and three nuclear genes (18S rRNA, 28S rRNA, and the Internal Transcribed Spacer (ITS)). We tried to explain their present diversity in relation with schistosomiasis transmission.

Results

Population genetic analysis

Mitochondrial genome diversity

A data matrix of 1031 bp was used in this analysis (644 bp from the Folmer region and 387 bp from the Asmit region). All mtDNA sequences were found to be highly variable. Within species, the global haplotype diversity was very high in our samples ranging from 0.85 in *B. umbilicatus* to 0.99 for *B. senegalensis*. Furthermore, our estimate of nucleotide diversity ranged from 0.016 in *B. camerunensis* population to 0.052 for *B. senegalensis* (Table 1).

Within countries, as expected haplotype diversity is lower but exceeds 0.800 in the three countries (Table 1). The number of *B. truncatus* unique haplotypes found in the Northern region of Africa (Egypt) is lower than that found in the Sub-Saharan Africa (Cameroon and Senegal). There is also higher nucleotide diversity found within *B. truncatus* populations sampled from Cameroon and Senegal compared to Egypt.

Ribosomal genome diversity

Ribosomal RNA (18S) A data matrix of 852 bp was used in this analysis and the sequences were found to be highly similar. The highest haplotypes diversity was again observed within *B. senegalensis* species (Hd = 0.86),

while the lowest one was observed within *B. truncatus* (Hd = 0.157), confirming the results obtained from the cox1 data (Table 1).

Ribosomal RNA (28S) A data matrix of 855 bp was used in this analysis, the sequences were found to be more variable than 18S, and therefore higher values of haplotype and nucleotide diversity were observed (Table 1). Haplotype diversity exceeds 0.5 in all species, but again the highest Hd was detected in *B. senegalensis* (Hd = 0.95).

Ribosomal RNA (ITS) ITS data was only available for six species from 17 different localities. Therefore, these data were only analyzed at a basic phylogenetic level and not at the population level. ITS sequences had an extreme amount of length variation, with a range of 600 to 990 bp. The shortest ITS lengths were noted in *B. globosus*, thus indicating probable deletion events. The largest ITS sequences were found in *B. tropicus* species. The sequences were found to be highly variable.

Genetic divergence between and within species

The diversification index (*Fst*) between the seven studied species was calculated using the combined data matrix (Table 2). The largest divergence was observed between *B. forskalii* and *B. umbilicatus* populations (*Fst* = 0.903), whereas those of *B. truncatus* and *B. tropicus* are the most closely related (*Fst* = 0.206), as expected since these two species are part of the same group.

The average within species diversity using the combined data matrix ranged from 0.005 to 0.040 (Table 3). The most heterogeneous species were *B. senegalensis* and *B. forskalii*, while individuals from *B. umbilicatus* are the most homogeneous, but this might be the result of the small sample size of the latter species.

Demographic history

DnaSP v5.10.1 was used to perform Tajima's and Fu's neutrality tests in order to detect violations of mutation-drift equilibrium caused by selection or changes in population size. Within *B. truncatus*, the two tests were significantly negative using cox1 sequences, while no significant results were obtained when samples from individual countries were analyzed, perhaps in part because of the smaller sample sizes. Tajima's *D* was significantly negative in the 28S dataset. Although these two statistics were originally introduced as tests of neutrality, Fu's test is considered a powerful test to detect past population expansion. Therefore, significant negative values, such as those seen here, can indicate population expansion especially in Cameroonian and Senegalese *B. truncatus* populations. Within other species, the estimates of the two statistics were not significant in all regions, which

Table 1 Sequence diversity in mitochondrial and nuclear ribosomal genes from seven *Bulinus* species collected in different African countries

	Countries	n	u	Hd	π	D (P-value)	F _s (P-value)
Cox1							
<i>B. truncatus</i>	All	56	35	0.911	0.050	-1.834*	-6.209*
	Cameroon	24	20	0.955	0.042	-1.712	-0.249
	Egypt	20	4	0.508	0.023	0.844	1.997
	Senegal	12	9	0.961	0.053	-0.267	-4.159
<i>B. globosus</i>	Cameroon	20	18	0.978	0.035	-1.022	-1.351
<i>B. senegalensis</i>	All	50	45	0.992	0.052	-1.611	-8.626
	Cameroon	16	14	0.964	0.051	-0.264	-0.141
	Senegal	34	30	0.985	0.053	-1.666	-2.707
<i>B. tropicus</i>	Cameroon	10	8	0.937	0.045	-0.271	-1.531
<i>B. forskalli</i>	Cameroon	10	8	0.933	0.051	-0.027	-2.667
<i>B. umbilicatus</i>	Senegal	8	5	0.850	0.035	1.466	2.921
<i>B. camerunensis</i>	Cameroon	6	4	0.899	0.016	-0.8374	1.655
18S							
<i>B. truncatus</i>	All	30	3	0.157	0.001	-0.483	-4.121
	Cameroon	10	1	0.000	0.000	-	-
	Egypt	10	1	0.000	0.000	-	-
	Senegal	10	3	0.378	0.002	-0.507	2.199
<i>B. globosus</i>	Cameroon	10	3	0.417	0.001	-1.233	-0.189
<i>B. senegalensis</i>	All	20	9	0.863	0.002	-0.009	-4.792
	Cameroon	10	7	0.853	0.002	0.168	-4.538
	Senegal	10	6	0.801	0.001	0.592	-0.658
<i>B. forskalli</i>	Cameroon	10	4	0.458	0.001	-0.612	0.172
28S							
<i>B. truncatus</i>	All	30	13	0.505	0.007	-1.956*	-4.095
	Cameroon	10	5	0.539	0.008	-1.116	-0.062
	Egypt	10	4	0.504	0.006	1.193	1.716
	Senegal	10	6	0.568	0.009	-1.323	-1.285
<i>B. globosus</i>	Cameroon	10	7	0.831	0.004	1.168	-0.946
<i>B. senegalensis</i>	All	20	14	0.955	0.012	-0.159	-1.962
	Cameroon	10	8	0.893	0.011	-1.375	-1.785
	Senegal	10	9	0.956	0.013	1.168	-0.946
<i>B. forskalli</i>	Cameroon	10	7	0.834	0.012	1.365	7.499**

Note.— n: number of individuals sequenced, u: number of unique haplotypes within countries, Hd: haplotype diversity, π : nucleotide diversity, D: Tajima's D statistic, F_s: Fu's F_s statistic.

*P < 0.05; **P < 0.01.

indicate neutral evolution for these species in the studied countries.

Phylogeny reconstruction

The phylogenetic trees produced for all gene fragments together and for each gene separately were very similar, as were the three obtained using three different tree-building algorithms (maximum likelihood (ML), maximum

parsimony (MP) and neighbor-joining (NJ)). All analyses confirm the monophyletic status of the *Bulinus* genus (bootstrap support of 93.3%; see Figure 1).

Combined data matrix

The results from all genes were combined together for 40 *Bulinus* specimens, as this improved resolution and resulted in higher bootstrap values for internal nodes

Table 2 Estimation of fixation index (*Fst*) over sequence pairs from different *Bulinus* species using the combined *cox1*, 18S, and 28S data matrix

Species	<i>B. truncatus</i>	<i>B. tropicus</i>	<i>B. senegalensis</i>	<i>B. camerunensis</i>	<i>B. forskalii</i>	<i>B. globosus</i>
<i>B. tropicus</i>	0.206					
<i>B. senegalensis</i>	0.538	0.600				
<i>B. camerunensis</i>	0.622	0.699	0.777			
<i>B. forskalii</i>	0.618	0.703	0.761	0.623		
<i>B. globosus</i>	0.523	0.599	0.721	0.791	0.793	
<i>B. umbilicatus</i>	0.659	0.711	0.817	0.899	0.903	0.774

compared to the single gene trees. The three different tree-building algorithms were largely congruent (Figure 1). All seven species were supported by high bootstrap values and split into two clusters: cluster A comprised members of the *B. truncatus/tropicus* complex and the *B. africanus* group, while cluster B represented the *B. forskalii* group.

The cluster A is split into two subclades (bootstrap value of 94%), the first subclade C contains sequences that are restricted to either *B. truncatus* or *B. tropicus*, with Cameroonian *B. truncatus* haplotypes branching off earlier than those from Senegal and Egypt. This could indicate that these *B. truncatus* haplotypes were introduced into Egypt from Sub-Saharan countries. The second subclade D includes *B. globosus* and *B. umbilicatus* haplotypes.

As for the second cluster B, the haplotypes split again into two subclades supported by bootstrap values of 99%. Subclade E includes sequences from *B. forskalii* and *B. camerunensis*, while subclade F contains sequences that are restricted to *B. senegalensis*, which is itself split into two groups: the first with Cameroonian haplotypes and the second with Senegalese haplotypes (Figure 1).

mtDNA (*Cox1* Folmer and Asmit regions)

The *cox1* region carried a strong phylogenetic signal, with clear haplotype clustering and high bootstrap support, although with higher bootstrap values for the Folmer region (Figure 2). The phylogenetic analysis indicated the

same clustering as found with the combined data matrix. However, due to the higher number of *cox1* sequences individuals could be grouped according to the country of origin. For example three clear *B. truncatus* clusters could be identified using both Folmer and Asmit regions, with again Cameroonian *B. truncatus* haplotypes branching off earlier than those from Senegal and Egypt (Figure 2). In addition, the *B. senegalensis* haplotypes split into two lineages, the first originated from Cameroon and the second from Senegal, the clustering within Senegal was however less supported (Figure 2).

Nuclear rRNA (18S, 28S and ITS)

The phylogenetic trees generated using the nuclear rRNA (18S, 28S and ITS) confirm the major clades described by both the combined data matrix and the *cox1* region (Figure 3). However, the 18S region was not able to classify the sequences according to their species. This is the case of the *B. africanus* group where there was no clear segregation between *B. globosus* and *B. umbilicatus*. Similarly, the three species within the *B. forskalii* group, *B. senegalensis*, *B. camerunensis* and *B. forskalii* all grouped together (Figure 3).

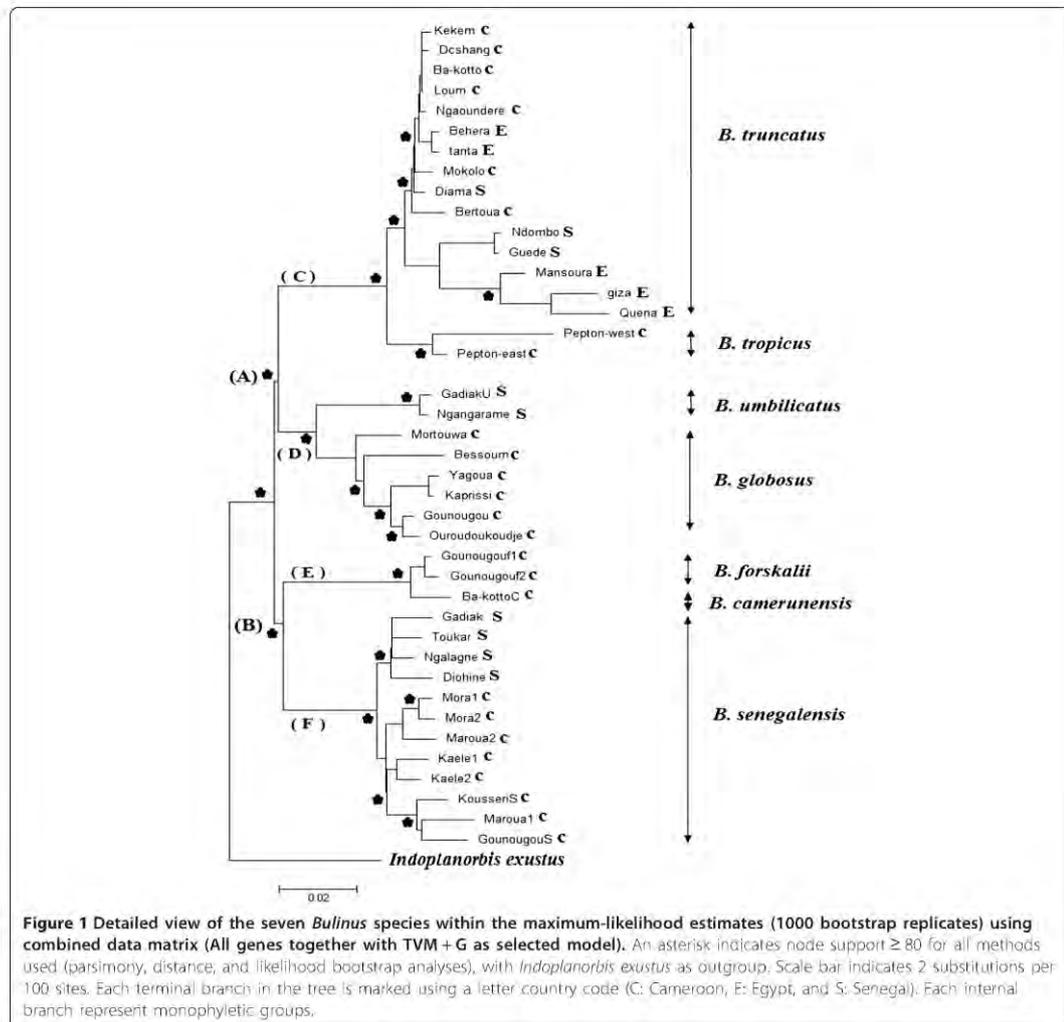
Discussion

Population genetic analysis

The mtDNA sequences showed high haplotype and nucleotide diversity, with a clear segregation according to

Table 3 Estimation of average evolutionary divergence over sequence pairs within species using the combined *cox1*, 18S and 28S data matrix

Species	Cox1-Folmer	Cox1-Asmit	18S	28S	Combined data matrix
<i>B. truncatus</i>	0.007 ± 0.002	0.093 ± 0.009	0.002 ± 0.001	0.009 ± 0.001	0.026 ± 0.001
<i>B. tropicus</i>	0.020 ± 0.003	0.005 ± 0.009	0.002 ± 0.002	0.076 ± 0.008	0.024 ± 0.002
<i>B. senegalensis</i>	0.087 ± 0.006	0.049 ± 0.006	0.002 ± 0.001	0.011 ± 0.002	0.038 ± 0.002
<i>B. forskalii</i>	0.046 ± 0.006	0.052 ± 0.007	0.000 ± 0.000	0.122 ± 0.008	0.040 ± 0.003
<i>B. globosus</i>	0.055 ± 0.006	0.065 ± 0.008	0.001 ± 0.000	0.014 ± 0.003	0.024 ± 0.002
<i>B. umbilicatus</i>	0.002 ± 0.002	0.070 ± 0.011	0.002 ± 0.002	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.001
<i>B. camerunensis</i>	0.002 ± 0.002	0.023 ± 0.007	-	-	-
Over all mean distance	0.117 ± 0.009	0.134 ± 0.009	0.005 ± 0.002	0.038 ± 0.003	0.076 ± 0.003



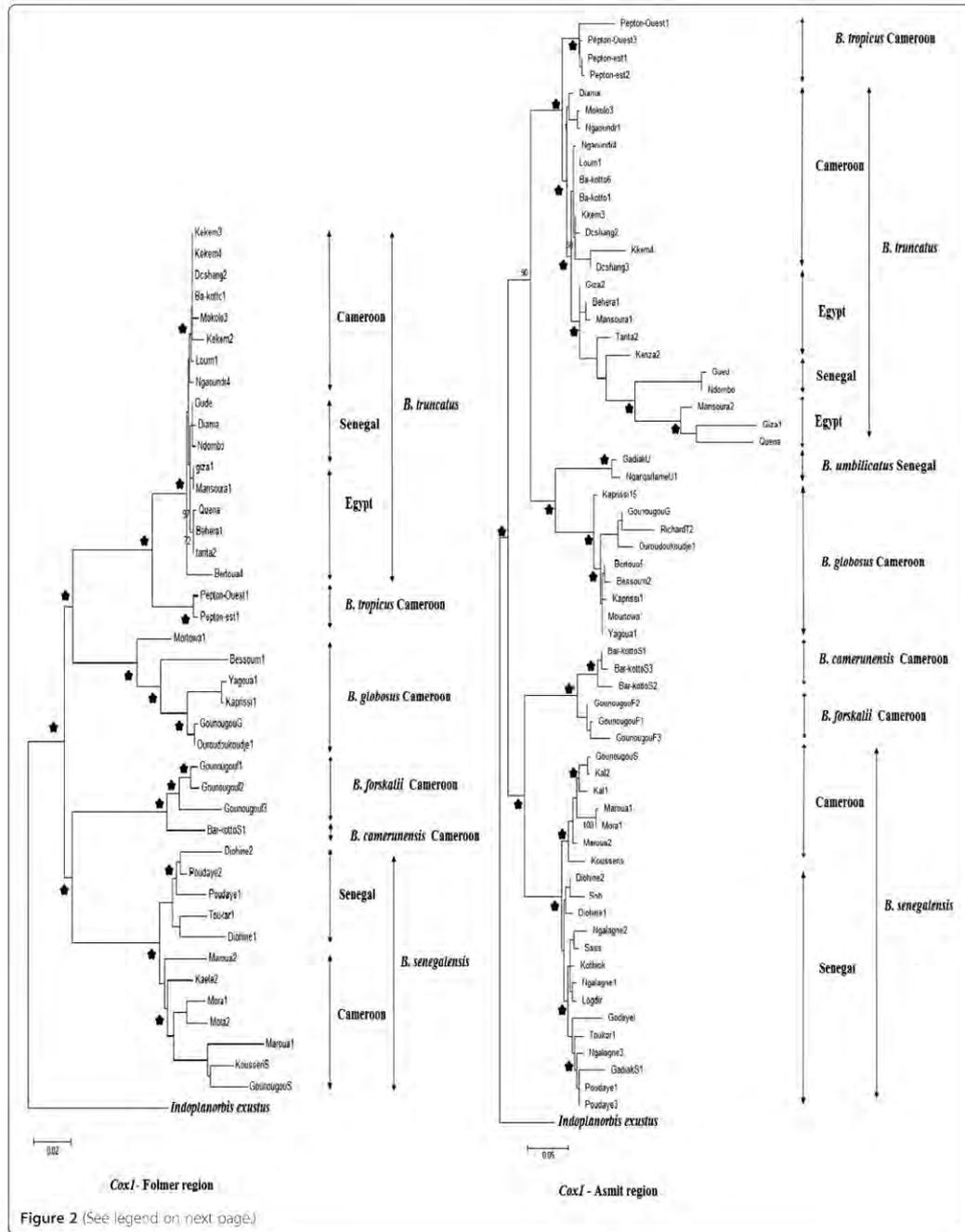
species and locality. Many different haplotypes were found, with approximately one out of three to four snail specimens having a different haplotype within the same locality. This high level of genetic diversity was higher than that found by Nalugwa et al. [11] in *B. truncatus* and *B. forskalii* (from Cameroon) where one snail out of six to seven individuals had different mtDNA haplotypes using the same fragment [11].

Of the nuclear fragments, 18S was the least variable, while 28S showed an intermediate level of nucleotide variation compared to the ITS fragment which was the most variable. These results are comparable to that found in the work of Jørgensen et al., [8] where they also

observed a lower variation in 18S compared to 28S in 26 *Bulinus* taxa representing the four species groups currently recognized in this genus from different African countries [8]. Despite this intermediate nucleotide diversity in 28S, the haplotype diversity was high and comparable to that found with the *cox1* region.

This high genetic diversity detected at all loci, both within and between species is probably influenced by several factors:

- i) Firstly, geographical isolation is probably the most dominant factor to explain the global diversity within species from different countries. In fact,



(See figure on previous page.)

Figure 2 Detailed view of the seven *Bulinus* species within the maximum-likelihood estimates (1000 bootstrap replicates) using **cox1 Folmer and Asmit region (All genes together with GTR + G as selected model)**. An asterisk indicates node support ≥ 80 for all methods used (parsimony, distance, and likelihood bootstrap analyses), with *Indoplanorbis exustus* as outgroup. Scale bar indicates 2 substitutions per 100 sites for Cox Folmer region and .5 substitutions per 100 sites for Cox Asmit region.

Bulinus populations investigated in the present study originated from geographically distant countries, limiting gene flow between them. This reproductive isolation might have allowed independent evolution and divergence of these populations leading to distinct lineages. Indeed, our results showed that

B. truncatus and *B. senegalensis* populations from the same country clustered together and formed different lineages (Figure 2).
 ii) Secondly, *Bulinus* species are hermaphrodite and can reproduce both by cross-fertilization and/or self-fertilization [12], and each of these modalities

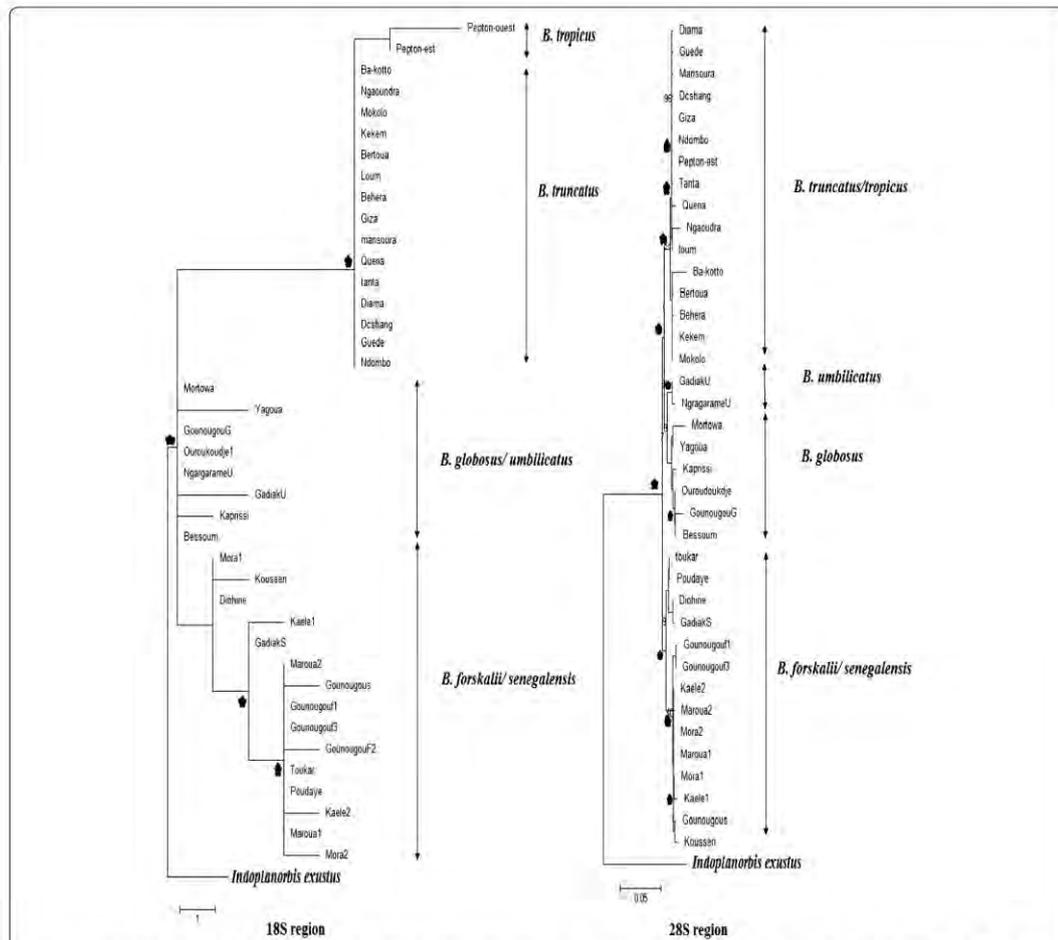


Figure 3 Detailed view of the seven *Bulinus* species within the maximum-likelihood estimates (1000 bootstrap replicates) using **18S and 28S (All genes together with GTR + G as selected model)**. An asterisk indicates node support ≥ 80 for all methods used (parsimony, distance, and likelihood bootstrap analyses), with *Indoplanorbis exustus* as outgroup. Scale bar indicates 5 substitutions per 100 sites for 28S region.

induces different genetic consequences [13].

B. globosus and *B. senegalensis* are mainly outcrossing and therefore they showed high levels of genetic variability.

- iii) Thirdly, despite the fact that *B. truncatus* is preferentially self-fertilizing, it is a tetraploid species [14], and studies have shown that diversification is high in polyploid species [15], which might explain this relatively high haplotype diversity detected within this snail species.

Snail genetic diversity and host parasite compatibility

The relationship between *Schistosoma* and *Bulinus* species is very specific and varies in according to geographic location [7,16]. For schistosome - snail interactions, empirical data suggest local adaptation of parasites which result in higher infection levels of local snail populations [17]. This in turn could affect the genetic diversity of these snails from one infection site to another [17].

In Cameroon, our results showed lower levels of genetic diversity for *B. truncatus* than for *B. globosus* and *B. senegalensis* at all loci. In fact, according to Schmid-Hempel [15], and Coltman et al., [19], a loss of genetic variation in host population can increase susceptibility to parasitism [18,19], basing on this statement higher infection and transmission rates should be expected in those *B. truncatus* populations. Indeed, experimental infections of *B. globosus* and *B. truncatus* from Cameroon with different isolates of local miracidia were carried out to study snail-parasite compatibility [6]. Their findings suggest that *B. truncatus* might be more implicated than *B. globosus* in *S. haematobium* transmission.

On the other hand, *B. forskalii* is ubiquitous in Cameroon and it is often present in association with *B. senegalensis*. It acts as intermediate host for *S. guineensis* [20]. The results reported in the present study revealed very high levels of genetic diversity in *B. forskalii* at all loci, which is in accordance with the work of Gow et al. [20], who have detected high level of microsatellite polymorphism and gene diversity within *B. forskalii* populations in Cameroon. Furthermore, according to Tchuem Tchuente et al. [1], there is a decrease or cessation in *S. guineensis* transmission in some major foci in Cameroon, indicating a progressive extinction for this parasite species in this country [20]. This parasite extinction is most likely the result of hybridization between *S. guineensis* and *S. haematobium*, but also is maybe influenced by the high levels of genetic diversity within Cameroonian *B. forskalii* populations since a gain of genetic variation can decrease susceptibility to parasitism [19].

In Egypt, only *B. truncatus* acts as intermediate host for urinary schistosomiasis. *B. truncatus* snails are recorded in water bodies throughout Egypt. It is most abundant in large canals, and decreases in density as

the water approaches and flows into drains [21]. In this country, urinary schistosomiasis is prevalent along the Nile Valley from the Delta region to Upper Egypt. A seasonal analysis showed that *B. truncatus* snails are year-round infected with schistosomes [22]. In the present study, we have noted a relatively high genetic diversity within Egyptian *B. truncatus* populations. In parallel, according to El-Khoby 2000, there is a decrease in the prevalence of *S. haematobium* in Egypt during the last years, and *S. mansoni* has almost totally replaced *S. haematobium* in Lower Egypt and is spreading into Upper Egypt [23]. Furthermore, the haplotypes detected from the Nile Delta were different from those found in Upper Egypt. Prevalence of *S. haematobium* in Upper Egypt sites was higher than that found in the Nile Delta [23]. This might be explained by a variety of factors that are probably related to a lower socioeconomic status of people who live in rural sites (Upper Egypt) and are more employed in agriculture so that they are more exposed to infection. Another factor might be related to higher genetic diversity within populations of *B. truncatus* in Nile Delta.

In Senegal, our results showed higher diversity in *B. truncatus* populations than those in Egypt and Cameroon. This might be linked to the fact that Senegalese *B. truncatus* populations are implicated in the transmission of *S. bovis* and *S. haematobium* x *S. bovis* hybrids, but not of pure *S. haematobium* [24], suggesting a strong role for parasite genetics in influencing the diversity of their intermediate hosts.

Phylogeny of bulinids from Cameroon, Egypt and Senegal in relation to schistosomiasis

Schistosomiasis transmission depends on the active role of the intermediate host. The disease is thus closely related to rural development of water resources and snail population expansion [25]. Therefore, we cannot talk about parasite distribution without referring to the distribution of its intermediate host. Our results showed lower diversity within *B. truncatus* populations originating from North Africa (Egypt) compared to those originating from Sub-Saharan Africa (Cameroon and Senegal) at all loci. Many factors can explain this lower diversity in Egypt such as selection, drift or probably a relatively recent introduction since specimens from Cameroon and Senegal are basal to them in lineage C (Figures 1 and 2), which may suggest that *B. truncatus* may have colonized Egypt from Sub-Saharan Africa. In addition, a previous hypothesis suggested that schistosomiasis has appeared earlier in various parts of sub-Saharan Africa and then became widely distributed in North Africa during prehistoric wet phases [26]. In fact, the physical and human environment of the Nile valley and delta provided increasingly favorable conditions for the transmission and

Table 4 Location and sampling information for the seven *Bulinus* species collected from 45 sites in Cameroon, Senegal and Egypt

Species	Localities	GPS Co-ordinate	Pre in % references	N
<i>B. truncatus</i>	Bertoua, Cameroon	04°35'20" N, 13°40'52" E	43.3	4
	Kékem, Cameroon	05°09'47" N, 10°00'37" E	1 - 4	4
	Mokolo, Cameroon	10°44'00" N, 13°46'04" E	25 - 49	2
	Barombi-kotto, Cameroon	04°28'04" N, 09°15'02" E	68.9	4
	Dschang, Cameroon	05°26'43" N, 10°04'01" E	1 - 4	4
	Ngaoundéré, Cameroon	07°18'59" N, 13°35'22" E	1 - 4	4
	Loum, Cameroon	04°42'58" N, 09°44'11" E	62.8	2
	Behera, Egypt	30°33'28" N, 30°42'14" E	1.8	4
	Kafer-zayat, Egypt	30°48'08" N, 30°48'06" E	0.45	2
	Ianta, Egypt	30°45'32" N, 31°00'07" E	0.45	2
	Kenesa West, Egypt	30°09'39" N, 31°10'09" E	0.26	2
	Giza, Egypt	30°08'29" N, 31°04'37" E	0.26	4
	Mansouria, Egypt	30°00'28" N, 31°12'07" E	0.26	4
	Quena, Egypt	26°10'23" N, 32°09'58" E	4.78	2
	Diama, Senegal	15°26'10" N, 16°14'02" E	-	4
	Guédé, Senegal	16°31'52" N, 14°47'33" E	-	4
	Ndmobo, Senegal	16°26'08" N, 15°41'52" E	-	4
<i>B. tropicus</i>	Petponoun-East, Cameroon	05°37'59" N, 10°38'09" E	95	5
	Petponoun-West, Cameroon	05°37'59" N, 10°38'07" E	95	5
<i>B. globosus</i>	Mourtouwa, Cameroon	10°12'42" N, 14°11'28" E	50-100	4
	Yagoua, Cameroon	10°20'58" N, 15°13'55" E	25-49	2
	Gounougou, Cameroon	09°04'33" N, 13°42'25" E	78.8	2
	Ouroudoukoudje, Cameroon	09°05'53" N, 13°43'22" E	57.3	2
	Djalingo, Cameroon	10°23'53" N, 15°15'11" E	-	4
	Bessoum, Cameroon	09°07'00" N, 13°15'11" E	77.2	6
<i>B. umbilicatus</i>	Richard Toll, Senegal	16°27'40" N, 15°41'15" E	-	4
	Gadiak, Senegal	14°51'49" N, 16°03'24" E	66.97	4
<i>B. senegalensis</i>	Nganparame, Senegal	14°34'60" N, 16°28'60" E	60.50	4
	Maroua, Cameroon	10°34'56" N, 14°19'39" E	-	4
	Mora, Cameroon	11°03'03" N, 14°08'58" E	-	4
	Gounougou, Cameroon	09°04'33" N, 13°42'25" E	78.8	2
	Kaélé, Cameroon	10°06'07" N, 14°27'03" E	>50	4
	Kousséri, Cameroon	12°04'59" N, 15°01'60" E	-	2
	Toukar, Senegal	14°31'51" N, 16°28'36" E	61.31	4
	Diohine, Senegal	14°29'48" N, 16°30'17" E	72.54	4
	Gadiak, Senegal	14°51'49" N, 16°03'24" E	66.97	4
	Foudaye, Senegal	14°48'48" N, 16°37'13" E	62.50	6
	Logdir, Senegal	14°30'48" N, 16°30'13" E	48.53	2
	Ngalagne, Senegal	14°24'29" N, 16°47'43" E	91.53	6
	Kotlor, Senegal	14°28'32" N, 16°32'13" E	43.33	2
	Godiyel, Senegal	13°41'00" N, 13°26'00" E	53.03	2
	Sob, Senegal	14°29'20" N, 16°26'58" E	34.55	2
Sass, Senegal	14°30'03" N, 16°24'04" E	45.61	2	

Table 4 Location and sampling information for the seven *Bulinus* species collected from 45 sites in Cameroon, Senegal and Egypt (Continued)

<i>B. camerunensis</i>	Barombi-kotto, Cameroon	04°28'04" N, 09°15'02" E	68.9	6
<i>B. forskalii</i>	Gounougou, Cameroon	09°04'33" N, 13°42'25" E	78.8	10
Total				164

Note. N: sample size. Pre: prevalence rate of human infection with *S. haematobium*.

spread of schistosomiasis caused by *S. haematobium* after the development of irrigation agriculture during the early Pharaonic period. Although the snail fossil record is poor in the ancient Nile valley and delta, *B. truncatus* host snails were probably widespread, also indicated by their recovery from irrigated areas and wells elsewhere in the Middle East.

Conclusion

Molecular studies provide opportunities to investigate the contribution of snail genetics to variation in disease burden and pathology. The results reported in this study are very important since a detailed understanding of *Bulinus* population's genetic variation has become increasingly relevant to the transmission of many schistosome parasites. A novel insight from our study is the high levels of genetic diversity detected within *Bulinus* populations originating from different African countries, which might affect the susceptibility of *Bulinus* species to parasite infection. In addition, the highest genetic diversity was detected within populations of *B. forskalii* and *B. senegalensis*. Furthermore, our results suggest that *B. truncatus* may have colonized Egypt from Sub-Saharan Africa. Further studies are required with higher sample size on a large scale to understand the demographic histories of these snails' populations.

Methods

Taxon sampling and DNA extraction

Snails of the *Bulinus* genus were sampled from Cameroon, Egypt and Senegal. The climate is of Mediterranean type in Egypt, tropical or equatorial in Cameroon, and mainly tropical in Senegal. This allowed the discovery of as much genetic variability as possible even within the same species from different countries. Table 4 summarizes the main characteristics of the investigated sites. Seven different species have been studied: *B. camerunensis*, *B. forskalii*, *B. globosus*, *B. senegalensis*, *B. tropicus*, *B. truncatus* and *B. umbilicatus*. The taxonomic identity of the sampled snails was initially determined based on shell morphology using the field identification key of Kristensen (1987). Snails were collected from their habitats and conserved in 70% ethanol until genetic analyses.

Genomic DNA was extracted from snails using the QiAamp DNA Mini Kit (Qiagen[®], France) following

manufacturer's instructions. A Nanodrop ND-1000 spectrophotometer was used to quantify and check DNA purity.

DNA amplification and sequencing

Four markers were selected for sequencing: the protein coding cytochrome c oxidase subunit I (*cox1*), and three nuclear ribosomal genes (ITS, 18S and 28S). Partial sequences from the four genes were obtained after PCR amplification. Various combinations of the used primers are presented in Table 5.

For *cox1* and ITS, 25 μ L PCR mixtures were set up with 0.5 U Taq polymerase (Qiagen), 5 μ L 10x buffer, 2–4 μ L MgCl₂ (depending on template and primers), 0.8 μ L dNTPs, 0.5 μ L from each primer (20 ng/ μ L). For 18S and 28S rRNA; amplification was performed with High Fidelity Taq DNA polymerase (Roche) in a 50 μ L total reaction volume with standard reaction conditions since this enzyme is designed to increase yield and fidelity when amplifying longer fragments. A standard concentration of 500 ng/ μ L was used as template for all PCR reactions.

The PCR conditions varied for each primer combination. Cycling conditions for both *cox1* and ITS were as follows: preheat step at 95°C for 5 min followed by 35 cycles of denaturation at 94°C for 10 sec, annealing at 40°C for 30 sec and extension at 72°C for 1 min; final extension step at 72°C for 10 min. Amplification for both 18S and 28S involved i) a preheat step at 94°C for 2 min, ii) 10 cycles, each including denaturation at 94°C for 15 sec, annealing at 43°C for 30 sec and extension at 72°C for 45 sec, iii) 15 cycles including the same conditions except the extension step which was expanded to 5 sec per cycle, iv) a final extension step at 72°C for 10 min.

PCR products were purified using QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen[®], France), then sequenced using an ABI Prism BigDye[®] Terminator v1.1 Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE, Applied Biosystems) following manufacturer's instructions, and run on an ABI 377 automated sequencer.

Data analyses

The obtained sequences were used to perform BLAST searches [30] via the National Center for Biotechnology Information (NCBI) GenBank to assure that the sequences

Table 5 Primers used for PCR amplification and sequencing

Primer name	Primer sequence	Forward or reverse	Source
Cytochrome oxidase subunit 1			
CO1 (LCD190)	5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'	Forward	Folmer et al., [27]
CO2 (HCO2198)	5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'	Reverse	
Asmit 1 (AT1)	5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3'	Forward	Bowles et al., [28]
Asmit 2 (AT2)	5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3'	Reverse	
Internal transcribed spacer of the ribosomal gene complex			
ETS1	5'-TGC TTA AGT TCA GCG GGT -3'	Reverse	Kane and Rollinson, [29]
ETS2	5'-TAA CAA GGT TTC CGT AGG TGA A -3'	Forward	
Small Subunit rRNA (SSU)			
18SBaso3F	5'-GTG CTC TTC NCT GAG GGT CC-3'	Forward	Jørgensen et al., 2011 [8]
18SBaso9R	5'-TAC GGA AGC CTT GTT ACG A-3'	Reverse	
Large Subunit rRNA (LSU)			
Baso2600F	5'-GGA ATC CGA CTG TCT AAT TAA AAC-3'	Forward	Jørgensen et al., 2011 [8]
Baso3600R	5'-CRG ATG GAT GGT AGC YTC GCA CC-3'	Reverse	

matched the sequenced genes. Sequence chromatograms were checked using SeqScape v2.5. Nucleotide sequences were multiple aligned using CLUSTAL X [31], and submitted to GenBank database under the accession numbers [GenBank: KJ135287-KJ13508 and KJ157326-KJ157508].

Population genetic analysis

DnaSP v5.10.1 [32] was used to estimate global and regional levels of haplotype and nucleotide diversity for the seven species, and to conduct Tajima's and Fu's neutrality tests for patterns on non-neutral evolution within each species. We also used DnaSP to estimate the diversification index (*Fst*) between each pair of species.

MEGA v5 [33] was used to estimate the average evolutionary divergence over sequence pairs within species for each gene. The optimal model of sequence evolution that best fits the data was evaluated using FindModel: for *cox1*-Folmer region (GTR + G), Cox Asmit-region (GTR + G), 18S (GTR + I), 28S (K81 + G) and combined data matrix (GTR + I + G). Standard error estimates were obtained by a bootstrap procedure (500 replicates).

Phylogenetic analyses

In the case of interpopulation diversity, data matrices were constructed (with unique haplotypes) for individual genes separately, and then for all combined genes. All phylogenetic analyses were carried out using MEGA. Evolutionary relationships between the haplotypes were inferred using maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML), and Neighbor-joining (NJ) methods. The different types of analyses were subjected to 1000 bootstrap replicates as a means for testing the reliability of individual branches within the generated tree.

Indoplanorbis exustus (Deshayes, 1834) (Planorbidae: Buliminæ) was selected as outgroup in analyses of *cox1* (Folmer and Asmit regions), 18S and 28S, as Morgan et al., [34] had placed this genus as sister group to *Bulinus* [34]. Trees using ITS data matrix were constructed with *Biomphalaria helophila* as outgroup since no ITS sequence of *I. exustus* was available. Parsimony inference was performed via a heuristic search using 1000 replicates of random sequence entry, tree-bisection-reconnection (TBR) branch swapping. Maximum likelihood and NJ trees were performed with the inferred substitution models as mentioned above.

Availability of supporting data

The data sets supporting the results of this article are available in the Dryad.org repository, doi:10.5061/dryad.hf63h.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

RZ designed the study, collected samples in Egypt, performed DNA extraction and molecular analyses, analyzed data, and wrote the manuscript; FFDT collected samples in Cameroon and reviewed the manuscript; MA analyzed data; BS collected samples in Senegal; TH reviewed the manuscript and collected samples in Senegal; GD supervised the study and reviewed the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The authors would like to thank Dr. Yasser Dar for helping us with sample collection. They also thank Dr. Daniel Rondelaud for providing critical feedback on the manuscript. This work was supported by the Institute of Neuroepidemiology and Tropical Parasitology of Limoges (UJMR-S 1094 INSERM).

Author details

¹Institute of Neuroepidemiology and Tropical Parasitology, INSERM UMR 1094, Faculties of Medicine and Pharmacy, 2 Docteur Raymond Marcland Street, 87025 Limoges, France. ²Faculty of Health Sciences, University of Montagnes, P.B 208, Banganté, Cameroon. ³Laboratory of Microbiology, CNRS UMR 7276, Faculties of Medicine and Pharmacy, 2 Docteur Raymond Marcland Street, 87025 Limoges, France. ⁴Institute of Research for Development, URMI, UM63, CNRS 7278, IRD 198, International Campus of Man, IRD B.P. 1386 Dakar, Senegal. ⁵Biology Department, Royal Museum for Central Africa, Leuvensesteenweg, 13, B-3080 Tervuren, Belgium.

Received: 11 June 2014 Accepted: 12 December 2014

Published online: 21 December 2014

References

- Tchuente Tchuente LA, Southgate VR, Jourdain J, Webster BL, Vercautusse J. *Schistosoma intercalatum*: an endangered species in Cameroon? *Trends Parasitol* 2003, **19**:389–393.
- Van der Werf MJ, Rosompendi KM, Vlas SJ. Schistosomiasis control in Ghana: case management and means for diagnosis and treatment within the health system. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2005, **97**:146–152.
- Agatsuma T. Origin and evolution of *Schistosoma japonicum*. *Parasitol Int* 2003, **52**:335–340.
- Rollinson D, Kaulas A, Johnston D, Simpson A, Tanaka M. Some molecular insights into schistosome evolution. *Int J Parasitol* 1997, **27**:11–28.
- Brown DS. Freshwater snails of Africa and their medical importance. In *CRC Press. Volume 2*. 2nd edition. Edited by Taylor and Francis Ltd., London, 1994:208–247.
- Njlokou F, Teukeng E, Bilong Bilong CF, Njiné T, Same Ekobo A. Experimental study of the compatibility between *Schistosoma haematobium* and two species of *Bulinus* in Cameroon. *Bull Société Pathol Exot* 2004, **97**:43–46.
- Sène M, Southgate VR, Vercautusse J. *Bulinus truncatus*, intermediate host of *Schistosoma haematobium* in the Senegal River Basin (SRB). *Bull Société Pathol Exot* 2003, **97**:29–32.
- Jørgensen A, Madsen H, Nalugwa A, Nyakaana S, Rollinson D, Stothard JR, Kristensen TK. A molecular phylogenetic analysis of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae) with conserved nuclear genes. *Zool Scr* 2011, **40**:126–136.
- Kane RA, Stothard JR, Emery AM, Rollinson D. Molecular characterization of freshwater snails in the genus *Bulinus*: a role for barcodes? *Parasit Vectors* 2008, **1**:15.
- Jørgensen A, Kristensen TK, Madsen H. A molecular phylogeny of apple snails (Gastropoda, Caenogastropoda, Ampullariidae) with an emphasis on African species. *Zool Scr* 2008, **37**:245–252.
- Nalugwa A, Jørgensen A, Nyakaana S, Kristensen TK. Molecular phylogeny of *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae) reveals the presence of three species complexes in the Albertine Rift freshwater bodies. *Int J Genet Mol Biol* 2010, **2**:130–139.
- Jarne P. Resistance genes at the population level. *Parasitol Today Pers Ed* 1993, **9**:216–217.
- Jarne P, Charlesworth D. Hermes meets Aphrodite: an animal perspective. *Trends Ecol Evol* 1996, **24**:35–39.
- Brown DS, Shaw KM. Freshwater snails of the *Bulinus truncatus/tropicus* complex in Kenya: tetraploid species. *J Mollus Stud* 1989, **55**:509–532.
- Schmid-hempel S. Parasites and flower choice of bumblebees. *Anim Behav* 1998, **55**:819–825.
- Vera C, Mouchet F, Bremond P, Sidiki A, Sellin E, Sellin B. Natural infection of *Bulinus senegalensis* by *Schistosoma haematobium* in a temporary pool focus in Niger: characterization by cercarial emergence patterns. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992, **86**:62.
- Milnechella D, LaVerde PT. Laboratory comparison of the relative success of *Biophalaria glabrata* snails which are susceptible and insusceptible to infection with *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 1993, **117**:335–344.
- King KC and Lively CM. Does genetic diversity limit disease spread in natural host populations? *Heredity* 2012, **109**:199–203.
- Coltman DW, Smith JA, Bancroft DR, Pilkington J, MacColl AD, Clutton-Brock TH, Pemberton JM. Density-dependent variation in lifetime breeding success and natural and sexual selection in Soay rams. *Am Nat* 1999, **154**:730–746.
- Gow JL, Noble JR, Rollinson D, Mimpfundi R, Jones CS. Breeding system and demography shape population genetic structure across ecological and climatic zones in the African freshwater snail, *Bulinus forskalii* (Gastropoda, Pulmonata), intermediate host for schistosomes. *Mol Ecol* 2004, **13**:3561–3573.
- Dazo BC, Halston NG, Dawood IK. The ecology of *Bulinus truncatus* and *Biomphalaria alexandrina* and its implications for the control of bilharziasis in the Egypt-19 project area. *Bull World Health Organ* 1996, **35**:339–356.
- Abdel-Nasser A. Prevalence of urinary schistosomiasis and infections with Trematode larval stages in *Bulinus truncatus* Snails from Qena Upper Egypt. *J Appl Sci Res* 2008, **4**:1610–1617.
- El-Khoby T, Galal N, Fenwick A, Baraka R, El-Hawey A, Noorani Z, Habib M, Abdel-Wahab F, Gabr NS, Hammam HM, Hussein MH, Mikhail MN, Cline BL, Strickland GT. The epidemiology of schistosomiasis in Egypt: summary findings in nine governorates. *Am J Trop Med Hyg* 2000, **62**:88–99.
- Huyse T, Webster BL, Geldof S, Stothard JR, Diaw OT, Polman K, Rollinson D. Bidirectional introgressive hybridization between a cattle and human schistosome species. *PLoS Pathog* 2009, **5**:e1000571.
- Kloos H, Thompson K. Schistosomiasis in Africa: an ecological perspective. *J Trop Geogr* 1979, **48**:31–46.
- David R. The paleoepidemiology of schistosomiasis in Ancient Egypt. *Soc Num Eco Soc Humen Ecology* 2000, **9**:14.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 1994, **3**:294–299.
- Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol* 1992, **54**:165–173.
- Kane RA, Rollinson D. Repetitive sequences in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheei*. *Mol Biochem Parasitol* 1994, **63**:153–156.
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990, **215**:403–410.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuc Acids Res* 1997, **25**:4876–4882.
- Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics Oxf Engl* 2009, **25**:1451–1452.
- Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004, **101**:11030–11035.
- Morgan JAT, DeJong RJ, Jung Y, Khallaayoune K, Kock S, Mkoji GM, Loker ES. A phylogeny of planorbid snails, with implications for the evolution of *Schistosoma* parasites. *Mol Phylogenet Evol* 2002, **25**:477–488.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Annexe 2
VOLET MALACOLOGIE

FICHE 1 SURVEILLANCE MALACOLOGIQUE

Enquête préliminaire (recensement des points d'eau)

District de Niakhar

VILLAGE DE.....Prévalence de *S. haematobium*.....%

Point d'eau Nom-Nature	Distance du village	Fréquentation / Nombre de site de contact homme-eau	Période en eau	Sondage malacologique/ Espèces récoltées	Observations

FICHE 2

FICHE D'ENQUETE MALACOLOGIQUE

LOCALITE.....POINT
D'EAU.....N° SITE.....

DATE.....HEURE

Type de point d'eau : Fleuve/Marigot/Mare/Lac/Canal d'irrigation/Drain/Canal
second./Rizière/Autres.....
.....

Nature des contacts homme-eau : Bain/Jeux/Puisage/Lessive/Vaisselle/Lavage
d'animaux/autres.....
.....

Turbidité de l'eau : Très trouble/
Trouble/Claire/Autres/.....

Vitesse de l'eau : Calme/Faible/Rapide/Très
rapide/.....

Pollution :
Déchets/Excréments/Pollution industrielle/Ordures/Autres/.....

Niveau de l'eau : Crues (Pluies)/ A sec/Petite flaque d'eau/ Elévation du niveau/.....

Plantes aquatiques : Beaucoup/Peu/Absence/Site recouvert/Espèce unique/Variété d'espèce/Localisation sur le
bord/Localisation à l'intérieur.....

Mollusques H.I. *B. truncatus* *B. globosus* *B. umbilicatus* *B. senegalensis* *B. forskalii*

Nb. Récolté

Nb. testé

Nb. +schisto

Nb. + autres cercaires

..... ..

Autres mollusques.....Lymnée.....Prosobranches Autres :.....

Présence/Absence.....

..... +/- +/-

Commentaires.....

.....
.....
.....

Annexe 3

VOLET PARASITOLOGIQUE

A. Questionnaire d'inclusion

Consentement éclairé obtenu : oui / non accordé par : participant (e) / père/ mère/tuteur

Date :...../...../.....

Prénom et nom du participant (e) _____

Sexe [] 1=Masculin [] 2=F2=Féminin

Age : ___/___ ans

Numéro d'enregistrement ___/___/___/

N° DSS _____

Prénom du père _____ Prénom et nom mère _____

Prénom et Nom du chef de concession _____ N° DSS _____

Hameau _____

village _____

B. Résultats de laboratoire

Village _____

Hameau _____

Nom du chef de concession _____

Prénom Nom du participant (e) _____

Numéro d'enregistrement ___/___/___/

Sexe : Masculin/Féminin Age:/...../ ans

Date d'échantillonnage...../.../.../Heures :...../.../et/.../.../Date d'analyse...../.../.....

EXAMEN

Examen macroscopique des urines : Clair/Trouble/Hématique Résultats.....

Examen microscopique des urines : Positifs/Négatif Résultats.....

Nombre d'œufs pour 10 ml d'urine : Résultats.....

Annexe 4

PROTOCOLE D'IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BULINS DE NIAKHAR

- **Protocole d'extraction de l'ADN des bulins**

Les mollusques sont disséqués pour récupérer leur pied dans du PBS (pH = 7,4). Le pied de chaque échantillon est rincé deux fois avec du PBS dans un tube Eppendorf. Le second lavage se fait sous agitation pendant 30 min afin d'éliminer toute trace d'alcool.

L'ADN a été extrait à l'aide du Kit QiAamp DNA Mini Kit (Qiagen® Courtaboeuf, France) en suivant les indications du fournisseur du Kit. Elle s'est réalisée en quatre étapes :

- **Lyse des échantillons :**

Les pieds des mollusques ont été lysés dans un mélange contenant 20 µL de protéinase et de 180 µL d'ATL (Tissue Lysis Buffer), et incubés à 56 °C pendant la nuit jusqu'à la lyse complet des masses molles. Le lysat est ensuite mélangé à l'aide d'un vortex pendant 15 sec et centrifugé pendant 1 min à 8000 tours/min. puis on a ajouté 200 µL d'AL (Lysis Buffer), et on incubé les tubes dans un bain-marie à 70 °C pendant 10 min.

- **Précipitation du lysat à l'éthanol :**

Les tubes ont été ensuite mélangés pendant 15 sec et centrifugés pendant 1 min à 8000 tours/min. Puis on a ajouté 200 µL d'éthanol à 100 °C, et on a soumis l'ensemble à une nouvelle centrifugation à 8000 tours/min pendant 1 min. Le mélange est transféré ensuite dans une colonne de filtration (QiaAmp), et le contenu du tube est ensuite centrifugé à 8000 tours/min pendant 1 min.

- **Lavages :**

Puis on a ajouté 500 µL de tampon AW1 (Washer Buffer 1) dans la colonne et on a centrifugé le mélange à 8000 tours/min pendant 1 min, et le culot a été jeté. Puis un autre lavage a été effectué avec 500 µL de tampon AW2 (Washer Buffer 2), et suit par une nouvelle centrifugation à 14000 µL pendant 3 min pour éliminer les traces de tampon résiduel.

- **Elution de l'ADN :**

L'ADN purifiée est placée dans un nouveau tube collecteur puis élué en ajoutant 200 µL d'AE (Élution Buffer), pendant 5 min, et ensuite on a procédé à une centrifugation finale à 8000 tours/min pendant 1 min. La concentration de l'ADN a été dose par spectrophotométrie UV à 260 nm.

- **Les amorces utilisées pour l'amplification de l'ADN des bulins**

Cytochrome c oxidase 1			
CO1 (LCI490)	5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'	Sens	(Folmer <i>et al.</i> , 1994)
CO2 (HCO2198)	5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'	Anti-sens	
Asmit 1 (AT1)	5'-TTT TTT GGG CAT CCT GAG GTT TAT-3'	Sens	(Bowles <i>et al.</i> , 1992)
Asmit 2 (AT2)	5'-TAA AGA AAG AAC ATA ATG AAA ATG-3'	Anti-sens	

- **Le programme de thermocycleur pour le Cox 1 (2 Amorces)**

Étapes	temps	température
Dénaturation initiale	5 min.	94 °C
Dénaturation	10 sec.	95 °C
Hybridation	30 sec.	40°C
Elongation	1 min.	72 °C
cycle à 3 étapes (38 x)		
Elongation finale	10 min.	72 °C