

APR Gestion et Impact du Changement Climatique 2002

**Convention de recherche N°07-H/2002
(référence Accord N°CV02000201)**

**Etude de l'impact du changement climatique sur les
maladies à transmission vectorielle en Afrique de l'Ouest :
le cas de la borréliose à tiques et du paludisme**

Coordinateur : Jean-François Trape

RAPPORT FINAL

Avril 2005

Récapitulatif du projet

Titre du Projet

Étude de l'impact du changement climatique sur les maladies à transmission vectorielle en Afrique de l'Ouest : le cas de la borréliose à tiques et du paludisme

Mots clés

Borréliose, tiques, fièvre récurrente, paludisme, anophèles, Afrique, changement climatique, sécheresse

Thèmes de l'APR concernés

Thème 3. Évaluation, impacts potentiels et stratégies d'adaptation au risque climatique : 3.2 Impacts sur la santé

Coordinateur scientifique

Trape Jean-François

DM, DSc, Directeur IRD 77 Paludologie Afrotropicale

Institut de Recherche pour le Développement, UR 77, Centre de Dakar, BP 1386, Dakar, Sénégal. Tél : +221 849 35 82/84; Fax : +221 832 43 07 ; mail : trape@ird.sn

Equipes participantes

IRD 77 Paludologie Afro-tropicale, Dakar (J.F. Trape)

IRD 22 Biologie et gestion des populations, Dakar (J.M. Duplantier)

UMR 165 IRD-CNRS, Centre de Recherche sur le Polymorphisme des Micro-organismes, Montpellier (F. Renaud)

IRD 34 Maladies émergentes et systèmes d'information, Montpellier (J.L. Camicas)

UM2-IRD 050-CNRS Hydrosociétés, Montpellier (E. Servat)

IRD 22-MNHN, Centre IRD de Bamako (L. Granjon)

IRD 16 Caractérisation et contrôle des vecteurs, Montpellier (D. Fontenille)

Centre National d'Hygiène, Nouakchott (H. Ba)

IFAN, Laboratoire d'Entomologie, Dakar (A. Niang)

Université de Bamako, Département des maladies parasitaires (A. Dabo)

Centre National de Lutte Contre le Paludisme, Ouagadougou (B. Zoungrana)

Centre Régional Agrymet de Niamey (A. Noma)

Centre de Recherche Entomologique de Cotonou (M. Akogbeto)

Centre de Recherches Médicales, Yaoundé (P. Awono-Ambene)

Ministère de la Santé Publique, Ndjaména (P. Mallaye)

Montant de l'aide accordée par le programme GICC

115 000 €

Résumé du projet

Le paludisme et la borréliose à tiques constituent les deux premières causes de morbidité par maladie vectorielle dans une grande partie de l'Afrique de l'Ouest soudano-sahélienne. Elles constituent aussi les deux maladies tropicales dont l'épidémiologie a été le plus affectée ces dernières années par le changement climatique.

Dans le cas de la borréliose à tiques (fièvre récurrente à *Borrelia crociduræ*), il a été montré au Sénégal que la persistance du déficit pluviométrique depuis le début des années 1970 avait été associée à une extension considérable de la distribution géographique de la maladie et de la tique vectrice *Alectorobius sonrai*, espèce autrefois limitée aux régions sahariennes et sahéliennes. Cette tique, qui vit habituellement dans les terriers des petits mammifères constituant le réservoir de la maladie, pique occasionnellement l'homme et lui transmet ainsi la borréliose. Au Sénégal, cette maladie est maintenant présente en zone de savane soudanienne où elle constitue en zone rurale la seconde cause de consultation en dispensaire pour une maladie à transmission vectorielle. Peu de données sont disponibles pour les autres pays d'Afrique occidentale et centrale et les limites de répartition du vecteur dans ces pays ne sont pas connues.

Les recherches sur la borréliose à tiques conduites dans le cadre du programme GICC 2 ont associées six équipes françaises et des équipes nationales de huit pays africains : Sénégal, Mauritanie, Mali, Burkina-Faso, Bénin, Niger, Cameroun et Tchad. Elles constituent la première étude à vaste échelle jamais réalisée sur cette maladie en Afrique occidentale et centrale. Un total de 4919 terriers de rongeurs dans 198 stations de 70 sites d'études de ces huit pays a été exploré pour rechercher la présence d'*A. sonrai* et mettre en évidence une infection par *B. crociduræ*. Des séances de piégeage de micro-mammifères ont été organisées dans 27 sites de ces huit pays et ont permis la collecte de 1087 rongeurs et insectivores chez lesquels une infection par *B. crociduræ* a été recherchée. De nombreux paramètres climatiques et environnementaux ont été testés pour tenter d'expliquer les limites de répartition du vecteur. Des méthodes nouvelles de génétique moléculaire ont pour la première fois été appliquées à l'étude d'*A. sonrai* et de *B. crociduræ*.

Les grandes lignes de la répartition géographique de la borréliose apparaissent clairement à l'issue du projet. Le vecteur et l'agent pathogène sont massivement présents au nord de l'isohyète 750 mm dans toute la moitié ouest de l'Afrique occidentale (Sénégal, Mauritanie, Mali). La limite sud de la progression de la borréliose peut être établie sur le terrain avec une grande précision car la prévalence de terriers colonisés y est immédiatement élevée. En zone saharienne, le vecteur et l'agent pathogène remontent dans les zones très arides du nord de la Mauritanie et il existe probablement une continuité territoriale avec les stations du sud marocain où la présence de *A. sonrai* a été rapportée dans les années 1950. Pour la moitié ouest de l'Afrique occidentale, l'hypothèse de base du projet -l'extension généralisée en zone soudanienne de la borréliose sous l'effet de la persistance de la sécheresse depuis 1970- apparaît ainsi confortée par les résultats de cette étude.

En revanche, dans la moitié est de l'Afrique occidentale et en Afrique centrale (Burkina-Faso, Niger, Bénin, Cameroun, Tchad), le vecteur de la borréliose semble rare ou absent, ceci à la fois en zone soudanienne, en zone sahélienne et en zone saharienne. Ces résultats sont inattendus dans la mesure où *A. sonrai* avait été autrefois signalé de Niamey et de Ndjaména. De plus, il semble exister au niveau du bassin du Niger une zone de transition où le vecteur se maintient au nord de l'isohyète 750 mm uniquement à proximité du lit majeur du fleuve Niger et ses principaux affluents. La répartition du vecteur au Sénégal, en Mauritanie et dans l'ouest du Mali est au contraire indépendante du réseau hydrographique.

De nombreux paramètres climatiques et autres paramètres environnementaux -pédologie, végétation, orohydrographie, géomorphologie, hydrogéologie, agriculture, population, faune associée- ont été testés pour tenter d'expliquer la limite est de répartition du vecteur. La plus grande hygrométrie de saison sèche et la plus grande fréquence des pluies d'hiver qui sont observées au Sénégal, en Mauritanie et dans l'ouest du Mali sont actuellement les seuls facteurs identifiés susceptibles d'expliquer les différences de répartition d'*A. sonrai* au nord de l'isohyète 750 mm en Afrique occidentale et centrale. L'humidité de saison sèche associée au delta central du Niger pourrait expliquer le maintien localisé du vecteur dans la partie centrale de l'Afrique de l'Ouest au nord de l'isohyète 750 mm.

Dans le cas du paludisme, la sécheresse a fortement réduit dans ces mêmes régions d'Afrique la répartition, l'abondance et le taux d'infection des anophèles vecteurs sans pour autant être associé à une diminution significative du poids du paludisme pour la plupart des populations concernées. L'apparition de résistances aux médicaments antipaludiques explique seulement une partie de ce phénomène. La perte d'immunité des populations nord-sahéliennes les rend plus vulnérables à l'infection et est susceptible d'occasionner des phénomènes épidémiques de grande ampleur et gravité, notamment en cas d'événement climatique extrême (pluies diluviennes). De plus, la multiplication récente des aménagements hydro-agricoles en zone sahélienne et dans les oasis du Sahara pour lutter contre les conséquences de la sécheresse crée des conditions favorables à l'introduction et au maintien permanent de populations d'anophèles vecteurs du paludisme, en premier lieu *Anopheles gambiae* et *An. arabiensis*. Il existe ainsi un risque de pénétration de ces espèces à forte capacité vectorielle en Afrique du nord.

Trois régions de Mauritanie ont été retenues pour des prospections systématiques à la recherche d'anophèles : (a) le massif de l'Adrar, dans le nord de la Mauritanie, où il existe de nombreuses oasis et gueltas permanentes, (b) les environs d'Akjoujt, ville située sur l'axe principal de circulation vers le nord de la Mauritanie, où la présence d'un oued important avec des aménagement hydro-agricoles récents (digue de retenue) présente un risque de colonisation par des anophèles, et (c) le massif du Tagant, dans le centre du pays, où il existe de nombreuses oasis, mares et gueltas permanentes et où un programme de création de petits barrages financé par l'Union Européenne est en cours de réalisation.

Un total de 19 stations a été étudié dans ces trois régions de Mauritanie. Les larves d'anophèles ont été systématiquement recherchées dans les différents types de collections d'eau observés et les imagos ont été échantillonnés lors de séances de captures de nuit sur homme ou en utilisant des pièges lumineux. Notre enquête a montré l'abondance des anophèles dans la plupart des sites étudiés de l'Adrar et du Tagant, dont trois des espèces connues comme vecteurs possibles du paludisme : *An. dthali* (Adrar et Tagant), *An. pharoensis* (Tagant) et *An. arabiensis* (Tagant). Les deux premières espèces sont de très mauvais vecteurs du paludisme en raison de leur forte zoophilie et de leur courte durée de vie et ne sont pas susceptibles de permettre l'épidémisation de la maladie. *An. arabiensis* est en revanche un très bon vecteur du paludisme qui représente ainsi un risque élevé d'épidémie dans le Tagant les années de forte pluviométrie.

L'absence de *An. arabiensis* lors de notre enquête dans l'Adrar suggère que cette espèce ne s'est pas encore adaptée aux nombreux gîtes potentiels, dont beaucoup sont récents, que nous avons observés dans cette région de Mauritanie. Toutefois, seule une petite partie des nombreuses oasis de l'Adrar a pu être étudiée lors de notre enquête et cette espèce est suspectée d'avoir été responsable de la forte épidémie de cas de fièvre présumés d'origine palustre qui est survenue en mars 2004 à Wokchida, à la suite des pluies exceptionnelles de l'automne 2003 qui ont été responsables de nombreuses inondations persistantes dans l'Adrar.

Summary

Impact of climatic change on vector-borne diseases in West Africa : the case of tick-borne borreliosis and malaria

Malaria and tick-borne borreliosis are the two first causes of morbidity due to vector-borne diseases in a large part of Sudano-Sahelian West Africa. They are also the two tropical diseases which have been the most affected by climatic change in recent years.

In the case of tick-borne borreliosis (*Borrelia crocidurae* relapsing fever), it has been shown in Senegal that the persistence of drought since the 1970's has been associated with a considerable extension of the geographic range of the disease and the vector tick *A. sonrai*, a species that was in the past limited to the Sahara and Sahel. This tick, which lives in burrows of small mammals that constitute the reservoir of the disease, can occasionally bite man and thus transmit borreliosis. In Senegal, this disease is now present in Sudan savannah areas, where it represents in rural areas the second cause of out-patient attendance for a vector-borne disease in dispensaries. Few data are available for other countries of West and Central Africa and the limits of distribution of the vector in these countries are not known.

Research on tick-borne borreliosis conducted as part of the GICC 2 programme has associated six French research groups and national teams from eight African countries: Senegal, Mauritania, Mali, Burkina-Faso, Benin, Niger, Cameroon and Chad. This represents the first large-scale study ever conducted on borreliosis in West and Central Africa. A total of 4919 burrows of rodents in 198 stations from 70 sites of these eight countries had been investigated for the presence of *A. sonrai* and its infection by *B. crocidurae*. Trapping sessions of micro-mammals were organized in 27 sites of these eight countries and resulted in the capture of 1087 rodents and insectivores that were tested for *B. crocidurae*. A large number of climatic and environmental factors were investigated in order to explain the limits of the distribution of the vector. New methods of molecular genetics were for the first time applied to the study of *A. sonrai* and *B. crocidurae*.

The main features of the geographic distribution of tick-borne borreliosis appear clearly from the results of the project. The vector and the pathogen are widely distributed north of isohyet 750 mm in the whole western half of West Africa (Senegal, Mauritania, Mali). The southern limit of the vector can be very accurately determined in the field since the prevalence of colonized burrows is immediately high. In the Sahara, the vector and the pathogen reach the very arid areas of Northern Mauritania and there is probably a geographic continuity with the sites of Southern Morocco where the presence of *A. sonrai* was reported in the 1950's. For the western half of West Africa, the basic hypothesis of the project -a general spread of tick-borne borreliosis in the Sudan savannah area due to the persistence of the drought since 1970- is consistent with the results of this study.

However, in the Eastern half of West Africa and in Central Africa (Burkina-Faso, Niger, Benin, Cameroon, Chad), the vector of borreliosis is rare or absent, this both in Sudan, Sahel and Sahara regions. These results are unexpected since *A. sonrai* in the past has been reported from Niamey and Ndjamena. Furthermore, it seems that in the basin of the river Niger, a transition area exists where the vector persists north of the isohyet 750 mm only in the vicinity of the river Niger and its main tributaries. By contrast, the distribution of the vector in Senegal, Mauritania and Western Mali is independent of the hydrographic network.

Numerous climatic and other environmental parameters -pedology, vegetation, orohydrography, geomorphology, hydrogeology, agriculture, population, associated fauna- were tested in order to explain the eastern limit of vector range. The higher hygrometry during the dry season and the higher frequency of winter rains which are observed in Senegal, Mauritania and western Mali are presently the only the only identified factors likely to explain the differences of distribution of *A. sonrai* north of isohyet 750 mm in Western and Central Africa. Dry season humidity associated with the Niger central delta may explain the local persistence of the vector in the central part of West Africa.

In the case of malaria, drought has strongly reduced in these same regions of Africa the distribution, abundance and infection rate of Anopheline mosquitoes, but without any significant reduction of the burden of malaria for most populations concerned. The emergence and spread of *Plasmodium*

falciparum resistance to antimalarial drugs only explain part of this phenomenon. The loss of immunity of north-sahelian populations has increased their susceptibility to the disease and may be responsible of large epidemics of malaria with many severe cases, particularly when extreme climatic events occur (high rains with floods). Furthermore, the recent multiplication of hydro-agricultural schemes in the Sahel and Saharan oasis for combating the consequences of drought has created favourable conditions for the introduction and perennial presence of malaria vectors, particularly *Anopheles gambiae* and *An. arabiensis*, with a risk that these species with high vectorial capacity reach North Africa.

Three regions of Mauritania were selected for investigating the presence of Anopheline mosquitoes: (a) the Adrar mountains, in northern Mauritania, where numerous oasis and gueltas are present, (b) the Akjoujt area, a town located on the main road to northern Mauritania, where there is a small dam on the oued for agriculture, and (c) the Tagant plateau, in the centre of the country, where numerous oasis, wetlands and gueltas are present and where the building of small dams is underway with a grant of the European Union.

A total of 19 sites were investigated in these three areas of Mauritania. Anopheline larvae were systematically searched for in the different types of water collections and imagos were investigated during night collections of landing mosquitoes and using light traps. Our study has shown that Anopheline mosquitoes were abundant in most sites studied in Adrar and Tagant, with the presence of three species known as possible malaria vectors: *An. dthali* (Adrar and Tagant), *An. pharoensis* (Tagant) and *An. arabiensis* (Tagant). The two first species are very poor malaria vectors due to their zoophily and short life-time, and thus cannot be responsible for malaria epidemics. By contrast, *An. arabiensis* is a very good malaria vector and represents a high risk of malaria epidemics in the Tagant the years of high rains.

The absence of *An. arabiensis* in the Adrar region during our study suggests that until now there is no adaptation of this species to the numerous potential breeding sites, many of them recent, that we found in this region of Mauritania. However, only a limited number of the numerous oasis of Adrar were investigated during our study, and this species was recently suspected to be responsible for the important epidemic of fever cases - presumed to be malaria cases- which occurred in March 2004 in Wokchida, following the high rains of autumn 2003 in Adrar which were responsible of long-lasting floods.

ETUDE BORRELIOSE

Introduction

L'étude de l'impact des changements climatiques sur la borreliose à tiques en Afrique de l'Ouest, conduite sous l'égide du programme Gestion et Impact du Changement Climatique (GICC) du Ministère français de l'Ecologie et du Développement Durable, a pour objectifs principaux d'établir la répartition géographique de cette maladie en Afrique de l'Ouest, d'étudier ses relations avec une série de paramètres climatiques et environnementaux et de préciser l'impact attendu du changement climatique sur la répartition et l'incidence de la maladie. Des études récentes ont en effet montré que la borreliose à tiques, maladie presque toujours méconnue car habituellement confondue avec le paludisme, est actuellement en phase d'expansion géographique et qu'elle constitue une des principales causes de consultation pour syndrome fébrile dans plusieurs régions d'Afrique de l'Ouest (Trape *et al.* 1991, 1996). De janvier 2003 à mars 2005, des enquêtes visant à rechercher la présence de la tique vectrice ornithodore *Alectorobius sonrai* et du spirochète *Borrelia crociduræ* ont été menées dans huit pays d'Afrique de l'Ouest et d'Afrique Centrale. Ce rapport fait état des observations faites durant ces enquêtes de terrain, des résultats des études de laboratoire réalisées à partir du matériel collecté et de l'analyse des paramètres environnementaux associés à la répartition ancienne et actuelle du vecteur et de la maladie.

Justification

L'agent pathogène responsable de la fièvre récurrente à tiques d'Afrique de l'Ouest est le spirochète *Borrelia crociduræ* Léger (1917). Il est rencontré en Afrique de l'Ouest, en Afrique du Nord et au Moyen Orient, où il provoque chez l'homme une maladie fébrile. Les patients non traités présentent pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois des épisodes de fièvre espacés d'une dizaine de jours chacun, d'où le nom de fièvre récurrente donné à la maladie. Les complications, parfois fatales, peuvent survenir à tout moment de l'évolution de la maladie : complications méningo-encéphalitiques, hépato-néphrites, atteintes oculaires et avortements spontanés chez les femmes enceintes (Gonnet 1942, Bergeret *et al.* 1948, Goubau 1984, Rodhain 1976, Charmot *et al.* 1986, Lecompte & Trape 2003). Cette affection, lorsqu'elle est diagnostiquée, est curable par les tétracyclines. Le diagnostic repose habituellement sur l'observation du spirochète lors de l'examen d'une goutte épaisse de sang colorée au Giemsa, technique identique à celle utilisée pour la mise en évidence des hématozoaires du paludisme. Cette technique, présente une bonne sensibilité entre les mains d'un microscopiste averti lorsqu'elle est effectuée lors du premier épisode fébrile. Elle est cependant souvent insuffisante lors des récurrences (50% de faux négatifs lors d'un examen standard de 0,5µl de sang sur goutte épaisse) et est presque toujours négative en période d'apyrexie (Trape *et al.* 1991, Diatta *et al.* 1992). Il n'existe pas d'immunité acquise solide contre cette maladie, ce qui explique qu'une même personne peut présenter de nombreux épisodes de borreliose au cours de sa vie.

Dans la plupart des cas, la borreliose, maladie oubliée ou peu connue, n'est pas diagnostiquée, et les malades seront considérés comme des cas de paludisme « résistants aux antipaludiques », ou de « viroses » ou « arboviroses » indéterminées. Pour ces raisons, l'incidence réelle de la borreliose est mal connue et seules les très rares études spécifiquement consacrées à cette maladie permettent d'en appréhender la fréquence. Au Sénégal, en zone rurale dans la moitié nord du pays, la borreliose représenterait 5% des motifs de consultation en dispensaire pour syndrome fébrile (Trape *et al.* 1991). Le suivi étroit pendant 10 ans d'une population villageoise (Dielmo, Sénégal) a montré qu'en moyenne chaque année 15% de la population développait la maladie, l'incidence de la borreliose fluctuant de 3% à 26% selon les années (Ba *et al.* 2001, 2003). Dans ces deux régions, la borreliose constitue la deuxième cause de morbidité par maladie à transmission vectorielle après le paludisme. La mortalité attribuable à la borreliose à tiques à *B. crociduræ* est mal connue. Elle semble néanmoins

inférieure à celle attribuable, en Afrique Orientale et Centrale, à *Borrelia duttoni*, dont le taux de létalité est estimé à environ 2% (Novy & Knapp 1906, Rhodain 1976, Goubau 1984).

Les petits mammifères sauvages servent de réservoir à *B. crocidurae*. Quatorze espèces de rongeurs et d'insectivores ont été trouvées naturellement infectées en Afrique de l'Ouest et la prévalence de l'infection peut localement atteindre 30 % chez plusieurs espèces (Boiron 1949, Godeluck *et al.* 1994, Trape *et al.* 1996 a et b). La transmission de *B. crocidurae* nécessite son passage par un vecteur. L'homme est ainsi contaminé à l'occasion de la piqûre de la tique ornithodore *Alectorobius sonrai* (Sautet & Witkowski, 1943, *Acarida : Ixodida*), seul vecteur connu, qui vit dans les terriers mais peut occasionnellement piquer à l'extérieur, notamment quand les terriers s'ouvrent dans les habitations (Mathis *et al.* 1934, Mathis 1948, Morel 1965). Cette tique est de petite taille (habituellement 1 à 8 mm), sa piqûre est indolore et elle reste fixée à l'hôte uniquement pour son repas de sang (au maximum une dizaine de minutes pour les nymphes, mâles et femelles), ce qui explique que peu de malades remarquent le moment de leur contamination.

Jusqu'à récemment, on considérait que la répartition géographique de la borréliose en Afrique de l'Ouest se limitait aux régions sahariennes et à la zone sahélienne, depuis la Mauritanie et le nord du Sénégal jusqu'au Tchad (Morel 1965, Trape *et al.* 1991 et 1996a). L'ensemble des données recueillies depuis les premières études épidémiologiques dans les années 1930 indiquaient la présence d'*Alectorobius sonrai* uniquement au nord du 14^{ème} parallèle (localité la plus au sud : 14°28'N/16°59'W) dans des régions où la pluviométrie moyenne était habituellement inférieure à 500 mm. Aucune localité de collecte n'atteignait l'isohyète 750 mm qui était considéré comme la limite maximum d'extension du vecteur (Morel 1965). Au Sénégal, la persistance du déficit pluviométrique au sud du Sahara depuis le début des années 1970 a été associée à une extension considérable de la distribution géographique de la tique vectrice *A. sonrai* que l'on retrouve maintenant jusqu'en zone soudanienne (Trape *et al.* 1996a, 1999). Peu de données sont disponibles pour les autres pays d'Afrique subsaharienne et les limites de répartition d'*A. sonrai* dans ces pays ne sont pas connues.

Matériel et méthodes

Plan d'échantillonnage

Etude macrogéographique

Pour étudier la répartition géographique de la borréliose à tiques en Afrique subsaharienne, des études en transects ont été menées selon les modalités suivantes (Figure 1) :

- **Un transect Ouest-Est** effectué le long du 14^{ème} parallèle, depuis le Sénégal jusqu'à la frontière du Soudan au Tchad, en échantillonnant les terriers de rongeurs aux intersections des longitudes 16°W, 14°W, 12°W, 10°W, 8°W, 6°W, 4°W, 2°W, 0°, 2°E, 4°E, 6°E, 8°E, 10°E, 12°E, 14°E, 16°E, 18°E, 20°E et 22°E.

- **Trois transects Nord-Sud** : (1) au Tchad et Cameroun, entre le 14°E et le 15°E, de 8°N à 14°N, (2) au Mali, Niger, Burkina Faso et Bénin, entre 2°E et le 3°E, de 7°N à 19°N, et (3) au Sénégal et en Mauritanie entre le 12°W et le 13°W, de 13°N à 23°N. Le long de ces trois transects, un échantillonnage des terriers de rongeurs ainsi que des captures de micromammifères ont été effectués dans chaque degré carré.

Des études complémentaires ont également été effectuées pour mieux préciser la répartition géographique actuelle d'*A. sonrai*. Ces études ont été réalisées dans les sites suivants :

- **Au Mali**, (a) le long du fleuve Niger et de la rivière Bani, son principal affluent, aux latitudes 12°30'N (Niger), 13°N (Niger), 13°N (Bani) , 14°N (Niger), 15°N (Niger) et 16°N (Niger), (b) à l'intersection 16°N/4°W, et (c) à Gao, localité-type d'*Alectorobius sonrai*.

- **Au Niger**, (a) le long du fleuve Niger, aux latitudes 14°N et 13°30'N, (b) dans le massif de l'Aïr (19°N/8°30'E), et (c) dans l'ouest du désert du Ténééré (19°N/9°E).

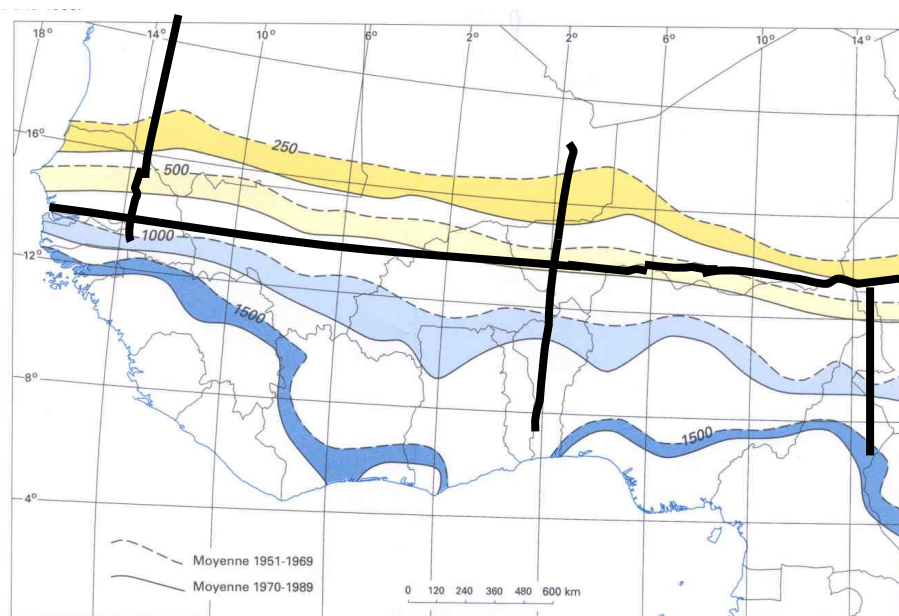


Figure 1 : Echantillonnage en transects Nord-Sud et Est-Ouest, et évolution des isohyètes pour les périodes 1951-69, 1970-89, en Afrique de l’Ouest.

- **Au Tchad**, (a) à Njaména, où Morel (1965) avait mentionné la présence d’*A. sonrai*, (b) dans les environs d’Ati (13°N/18°E), et (c) dans les environs de Bitkine (12°N/18°E).
- **En Mauritanie**, (a) à Nbeika (18°N/12°W) où une deuxième enquête à un an d’intervalle a été effectuée, et (b) près d’Akjoujt (19°N/14°30’W).

Etude microgéographique

Pour analyser le fonctionnement du système hôte/vecteur/parasite, une étude a été effectuée au Sénégal à trois échelles différentes :

- **A l’échelle du demi-degré carré**, des collectes de tiques ont été effectuées selon un transect Nord-Sud sur le 16°W aux intersections de 14°00’N, 14°30’N, 15°00’N, 15°30’N, 16°00’N, 16°30’N pour couvrir différents étages bioclimatiques. En complément du matériel recueilli lors de l’étude macrogéographique, le matériel recueilli lors de cette enquête a tout particulièrement été utilisé pour étudier les particularités de structuration génétiques des populations de tiques et de borrelies.
- **En limite sud de l’extension du vecteur**, dans le Sine-Saloum, des collectes de tiques ont été réalisées dans une trentaine de villages et de stations en milieu naturel et en zone de cultures pour déterminer la limite exacte de répartition d’*A. sonrai* et rechercher les facteurs expliquant cette distribution (effets « cours d’eau », « route », « nature du sol », « végétation », « latitude »...).
- **A l’échelle des villages de Dielmo et de Ndiop**, deux des villages de l’étude microgéographique dans le Sine-Saloum, des collectes de tiques, des captures de rongeurs et d’insectivores ainsi que des enquêtes épidémiologiques chez les habitants des deux villages ont été réalisées pour connaître le fonctionnement du système hôte/vecteur/parasite, les particularités de structuration des populations de tiques et de borrelies et comprendre les modalités de contamination de l’homme. Les villages de Dielmo et de Ndiop présentent un grand intérêt épidémiologique, tant du fait de la longueur dans le temps des séries de données disponibles que de la situation géographique particulière de ces deux villages. Depuis 1990, un suivi longitudinal des deux populations, comprenant un relevé quotidien des déplacements des villageois et la confection systématique de gouttes épaisses lors des épisodes fébriles, permet de recenser tous les cas de paludisme et de borreliose survenant chez les habitants de ces deux villages d’environ 350 habitants chacun. Bien que distants de 5 km seulement, Dielmo et Ndiop sont situés l’un au nord, l’autre au sud de la limite actuelle d’extension de *A. sonrai* au Sénégal.

- **Des sites particuliers** ont également été étudiés : la forêt classée de Bandia (14°35'N, 17°00'W) à proximité de Dakar où le taux d'infestation des terriers par *A. sonrai* est particulièrement élevé (source de tiques vivantes pour les besoins d'élevage) et les environs de Richard-Toll (16°27'N, 15°42'W) où des données anciennes sur la prévalence de la borréliose chez les rongeurs commensaux sont disponibles (Godeluck *et al.* 1994).

Méthodes de collectes des échantillons

Collecte de tiques

La collecte des tiques a été effectuée à l'aide d'un aspirateur à feuilles modifié (modèle Rioby) muni d'un tuyau souple dont on introduit l'extrémité dans les terriers des rongeurs et insectivores pour y recueillir la litière. Les tiques ainsi récoltées ont été conservées en alcool à 95° pour leur détermination ultérieure et, pour un échantillon d'entre-elles, pour leur typage génétique. Outre la collecte de tiques, des prélèvements systématiques de la faune associée aux terriers ont été effectués.

Lors des études en transect, un minimum de 30 terriers a été exploré dans chacun des sites d'échantillonnage, avec si possible plusieurs types d'habitats prospectés en intra- et en extra-domiciliaire. En cas d'absence du vecteur dans les 30 terriers examinés dans un site, 30 terriers supplémentaires ont été explorés dans le même site. Pour l'étude de la limite sud de la progression du vecteur, 50 terriers ont été examinés dans chaque village et stations en milieu naturel et en zone de cultures. Enfin, à Dielmo et à Ndiop, tous les terriers intra- et péri-domiciliaires des différentes concessions ont été systématiquement localisés et aspirés.

Captures de micromammifères réservoirs

Les captures de micromammifères ont été réalisées dans les différents sites d'échantillonnage à l'aide de pièges en grillage métallique type BTS appâtés à la pâte d'arachide. Dans la nature, la méthode adoptée a été celle du piégeage en ligne (lignes de 20 pièges disposées pendant 2 à 3 nuits avec une distance inter-piège de 10 mètres). Pour les captures intra-domiciliaires, 1 à 2 pièges étaient installés par pièce. Des pièges Sherman, permettant la capture de petits rongeurs tels que *Mus musculus*, ont aussi été utilisés dans les maisons. Les rongeurs étant principalement nocturnes, les piégeages ont été effectués de nuit. Cependant, les pièges ont été installés suffisamment tôt dans la soirée pour permettre la capture des espèces diurnes, notamment *Arvicanthis niloticus*. Enfin, dans plusieurs sites des sorties nocturnes pour capturer manuellement des espèces non piégeables telles que certains gerbillidés et les *Nanomys* ont été effectuées.

Tous les animaux capturés ont été identifiés, pesés, mesurés (longueurs tête+corps, queue, oreille et patte postérieure). Leur état reproductif a été noté. Les prélèvements et analyses effectués sont mentionnés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Présentation des prélèvements et analyses réalisés sur les rongeurs capturés

Nature du prélèvement ou de l'analyse	Objectif de l'analyse
Brossage du pelage des rongeurs	Collecte d'ectoparasites (puces, tiques, acariens)
Goutte épaisse directe	Recherche directe de <i>Borrelia</i> dans le sang
Prélèvement de sang conservé en azote liquide	Inoculation souris blanche pour recherche de <i>Borrelia</i>
Prélèvement du cerveau conservé en azote liquide	Inoculation souris blanche pour recherche de <i>Borrelia</i>
Prélèvement d'organes conservés dans l'alcool à 95°	Analyse ADN pour détermination spécifique
Conservation crâne ou carcasse dans du formol	Détermination spécifique
Certains rongeurs sont ramenés vivants	Caryotypage pour détermination spécifique

Enquêtes cliniques et épidémiologiques

Le suivi longitudinal des populations de Dielmo et de Ndiop depuis plus de dix ans a permis de collecter de nombreuses informations concernant l'incidence de la borréliose dans ces villages. En

début de protocole, un recensement a eu lieu. Pour chaque habitant, des renseignements concernant sa généalogie et ses liens familiaux, son lieu de naissance, son lieu de résidence, ses activités principales ont été inclus dans son dossier. Un examen médical complet ainsi que divers tests biologiques ont été réalisés en début de protocole. Les villageois avaient la possibilité d'accepter ou de refuser à tout moment ce protocole. Depuis 1990, des enquêteurs passent quotidiennement dans chaque concession s'enquérir de la présence et de l'état de santé des habitants suivis. Si un villageois est absent, son lieu de déplacement est si possible indiqué. Ces visites permettent de diagnostiquer rapidement les nouveaux cas de fièvre. Les accès fébriles, ainsi que tout autre symptôme laissant suspecter un cas de paludisme ou de borréliose, font l'objet d'un examen complet par un médecin du dispensaire (permanence 7j/7, 24h/24), d'une goutte épaisse dite d'urgence et d'un suivi post-consultation durant au moins trois jours. Les traitements prescrits par le médecin sont administrés par l'enquêteur lors de ses visites quotidiennes afin de s'assurer de la bonne prise des médicaments.

L'étude longitudinale des populations de Dielmo et Ndiop sur plus de dix ans permet de suivre l'évolution de l'incidence annuelle et saisonnière de la borréliose dans ces villages. Les variations d'incidence peuvent être mises en relation avec certaines variables climatiques telles que la pluviométrie moyenne, la température et l'humidité relative recueillies dans les stations (pluviométrie) ou accessibles dans les bases de données de la météorologie nationale. En outre, la connaissance des déplacements et du lieu d'habitation de chaque villageois inclus dans le protocole au cours des douze dernières années permet de relier certains paramètres environnementaux tels que le type d'habitation, le mode de couchage ou encore la présence de tiques dans les terriers des habitations avec l'apparition de cas de borréliose. Enfin, l'effet de certains facteurs intrinsèques connus tels que le sexe, l'âge, le groupe sanguin, le rhésus ou la déficience en G6PD sur l'incidence de la borréliose peut être testé. Les résultats des collectes de tiques et des captures de micromammifères sont des informations supplémentaires étayant les hypothèses posées concernant l'évolution de l'incidence de la borréliose.

Pour compléter les informations recueillies par le suivi longitudinal, une interview des populations locales et la visite de leurs habitations ont été effectuées afin d'identifier les facteurs pouvant favoriser la fréquentation des habitations par les rongeurs, le taux d'infestation des terriers intra-domiciliaires par la tique *A. sonrai*, et l'incidence de la borréliose chez l'homme. Le plan du village de Dielmo a été réactualisé. Un plan de chaque concession a été établi, les habitations et dépendances correspondantes décrites (type de sol, matériaux utilisés pour la confection des murs et de la toiture, modes de couchages, fréquentation de rongeurs, densité de terriers de rongeurs) et les activités principales des occupants notées.

Enquêtes environnementales

Pour chaque site d'étude, le recueil de données environnementales comprenait :

- type de végétation (observation directe)
- type de relief (observation directe)
- analyse pédologique (sur échantillons de sol recueillis dans chaque site)
- analyse climatique (bases de données)
- réseau hydrographique (cartographie IGN et observation directe)

Etudes de laboratoire

Traitement des tiques collectées

Au laboratoire, chaque tique conservée en alcool a été examinée à la loupe binoculaire pour sa détermination spécifique. Les tiques attribuables morphologiquement à *A. sonrai* ont été individuellement traitées en vue de leur analyse génétique : 1) Broyage et extraction d'ADN, 2) Typage génétique par amplification PCR (Polymorphism Chain Reaction) d'une dizaine de marqueurs microsatellites définis spécifiquement pour l'étude, 3) Détection d'infection à borrelies par amplification PCR du gène de la flagelline, et 4) Différenciation des souches borreliennes par méthode PCR-SSCP (PCR Single-Strand-Conformation Polymorphism) d'espaces intergéniques.

Les *A. sonrai* conservées vivantes ont été installées individuellement dans des pots à urines perforés et placées dans un dessiccateur permettant de maintenir une humidité relative d'environ 75% (conditions idéales de reproduction pour cette espèce) (Ba 1994). Des accouplements ont été réalisés en conditions contrôlées afin d'obtenir des lignées familiales connues et par la suite tester la ségrégation mendélienne des marqueurs microsatellites définis pour le génotypage des spécimens d'*A. sonrai*. L'élevage de tiques permet en outre d'identifier les mécanismes de transmission horizontale et verticale par infection expérimentale. Enfin, il peut permettre de tester les phénomènes de compatibilité tique-borrélie et la capacité vectrice des *A. sonrai* de zones géographiques différentes (Blanc *et al.* 1951).

Analyse des échantillons de rongeurs et d'insectivores

Les gouttes épaisses directes réalisées au moment des autopsies de rongeurs ont été systématiquement examinées sur 200 champs microscopiques à l'immersion (environ 0,5 ul de sang examiné). Compte tenu de la sensibilité relativement faible de cette méthode de diagnostic, chaque échantillon de sang et de cerveau conservé en azote liquide a été inoculé par voie intra-péritonéale à deux souris blanches. Cet animal est en effet particulièrement sensible à *B. crocidurae*. La technique d'inoculation permet de réamplifier la borreliémie si elle existe. Du fait du tropisme préférentiel de *B. crocidurae* pour le système nerveux central chez les hôtes réservoirs, l'inoculation de broyat de cerveau reste la méthode diagnostique la plus sensible (Diatta *et al.* 1994). Une goutte épaisse est ensuite pratiquée à J3, J6 et J10 pour chaque souris inoculée par section du bout de la queue, afin de contrôler l'apparition de borréliées dans le sang. La positivité est généralement confirmée dès J2 ou J3 selon la richesse de l'inoculum. Lorsque les *Borrelia* sont suffisamment nombreuses sur la goutte épaisse, la souris positive est sacrifiée et un prélèvement sanguin est réalisé par ponction intracardiaque. Une partie du prélèvement est conservée en collection en azote liquide dans des cryotubes avec du glycérol à 20 ou 30% du volume total. L'autre partie est traitée pour l'analyse génétique des borréliées selon les modalités expliquées précédemment.

Résultats

Echantillonnage

Etude macrogéographique

Echantillonnage des tiques

La recherche de la tique vectrice de la borréliose *A. sonrai* a été réalisée le long de quatre transects : un transect Ouest-Est du Sénégal au Tchad le long de 14°N tous les deux degrés carrés et trois transects Nord-Sud au Sénégal/Mauritanie, au Mali/Niger/Burkina Faso/Bénin et au Tchad/Cameroun tous les degrés carrés. Ces enquêtes ont été menées en 13 mois entre janvier 2003 et février 2004. Les sites d'échantillonnage sont identifiés sur la figure 2 et le détail des collectes est fourni dans les tableaux 2A à 2D. Une gradation des taux d'infestation des terriers par *A. sonrai* est faite : 1) Aucun terrier infesté : 0, 2) 0 à 10% des terriers infestés : *, 3) 11 à 30% des terriers infestés : **, 4) plus de 30% des terriers infestés : ***.

Outre les échantillonnages en transect, plusieurs enquêtes complémentaires ont été effectuées. Ainsi, en 1965, la présence d'*A. sonrai* avait été mentionnée par Morel à Ndjaména au Tchad. Pour confirmer cette observation, une enquête a été réalisée en février 2003 dans les zones de cultures sur la rive droite du Chari à Ndjaména (12°05'N-15°06'E, 30 terriers examinés) et dans le village de Toukra-Arabe au sud-ouest de la ville (12°01'N-15°06'E, 20 terriers intradomiciliaires et 13 terriers dans les cultures examinés). Aucun terrier ne contenait *A. sonrai*.

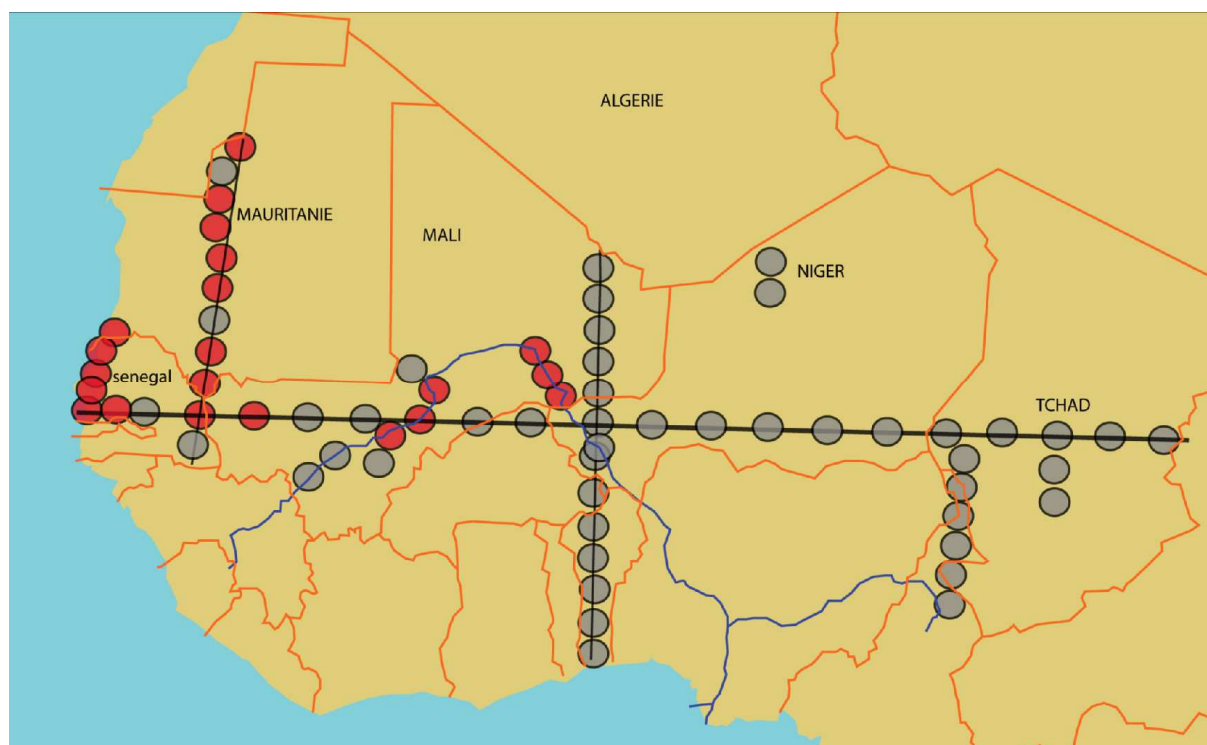


Figure 2. Résultats des enquêtes sur la répartition géographique d'*A. sonrai* en Afrique de l'Ouest et centrale effectuées entre janvier 2003 et mars 2005. En rouge, les sites d'étude où nous avons mis en évidence la présence du vecteur. En gris, les sites où l'examen de 60 terriers n'a pas permis de mettre en évidence la présence du vecteur.

Tableau 2 : Résultats des collectes de la tique *Alectorobius sonrai***2A – Transect Ouest-Est sur le 14^{ème} parallèle (du Sénégal au Tchad)**

Localisation	Pays	Localité proche	Date de collecte	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers positifs	% global d'infestation
14°Nx16°W	Sénégal	Ndofane	10/05/03	Village de Keur Ngor	13°58'N-16°01'W	15	2	20%
				Milieu naturel (friches)		9	3	
				Cultures		6	1	
14°Nx14°W	Sénégal	Koussanar	08/05/03	Village de Kalbirom	13°59'N-14°00'W	15	0	0%
				Milieu naturel (paturage + dunes)		7	0	
				Cultures		8	0	
14°Nx12°W	Sénégal	Koussane	06 au 07/05/03	Village de Kéniéba	14°05'N-12°03'W	15	13	53,3%
				Milieu naturel (savane arbustive)		15	3	
14°Nx10°W	Mali	Séfétó	13/12/03	Village de Diougouté	14°07'N-09°58'W	15	9	36,7%
				Milieu naturel (savane arbustive)		15	2	
14°Nx08°W	Mali	Didiéni	14 au 15/12/03	Village de Niamou	14°01'N-08°02'W	15	0	0%
				Milieu naturel (savane arbustive)		26	0	
				Village de Métanbougou	13°58'N-08°04'W	19	0	
14°Nx06°W	Mali	Niono	17/12/03	Village de Lamine bougou	14°04'N-06°02'W	15	0	0%
				Milieu naturel (savane arbustive)		15	0	
14°Nx04°W	Mali	Sofara	03 au 04/02/04	Village de Bounguel	14°09'N-04°06'W	20	0	0%
				Milieu naturel (plateau rocheux)	14°01'N-03°46'W	10	0	
				Milieu naturel + cultures	14°03'N-03°51'W	15	0	
				Milieu naturel + cultures	14°00'N-04°00'W	15	0	
14°Nx02°W	Burkina Faso	Djibo	31/01/04 au 01/02/04	Village de Toulfé	13°53'N-01°57'W	19	0	0%
				Milieu naturel + cultures	13°56'N-02°00'W	41	0	
14°Nx00°E	Burkina Faso	Dori	29 au 30/01/04	Village de Ndjiongba	14°04'N-00°02'E	20	0	0%
				Cultures		15	0	
				Milieu naturel (savane arborée)	14°00'N-00°00'E	15	0	
				Milieu naturel (montagnes + dunes)	13°54'N-00°05'W	10	0	
14°Nx02°E	Niger	Ouallam	11 au 12/01/04	Village de Simiri	14°08'N-02°08'E	30	0	0%
				Milieu naturel (savane arbustive)	14°02'N-02°05'E	15	0	
				Cultures		15	0	

14°Nx04°E	Niger	Dogondoutchi	24 au 25/01/04	Village de Kolifo	13°58'N-03°56'E	20	0	0%
				Milieu naturel (montagnes + dunes)	13°59'N-04°00'E	20	0	
				Cultures	14°00'N-03°58'E	20	0	
14°Nx06°E	Niger	Madaoua	13 au 14/01/04	Village de Tékhé	14°01'N-06°01'E	19	0	0%
				Milieu naturel + cultures	14°00'N-06°00'E	41	0	
14°Nx08°E	Niger	Tessaoua	16 au 17/01/04	Village de Mazaouda	14°00'N-07°59'E	24	0	0%
				Cultures	14°00'N-08°00'E	20	0	
				Milieu naturel (jachères)	14°00'N-07°59'E	16	0	
14°Nx10°E	Niger	Gouré	18 au 19/01/04	Village + cultures de Rifilamiram	14°02'N-10°02'E	22	0	0%
				Village de Gydio	13°59'N-10°02'E	5	0	
				Milieu naturel (prairie pâturée)		13	0	
14°Nx12°E	Niger	Mainé Sorroa	21 au 22/01/04	Campement peulh	14°00'N-12°00'E	10	0	0%
				Milieu naturel (prairie pâturée)		30	0	
				Milieu naturel (bas fond)	13°59'N-12°00'E	20	0	
14°Nx14°E	Tchad	Rig-Rig	19/02/03	Milieu naturel (dunes + bas fond)	14°01'N-14°09'E	60	0	0%
14°Nx16°E	Tchad	Mao	15 au 16/01/03	Village de Méchiméré	13°49'N-15°44'E	13	0	0%
				Milieu naturel (dunes + bas fond)	13°50'N-15°45'E	27	0	
				Cultures (bas fond)	13°48'N-15°45'E	20	0	
14°Nx18°E	Tchad	Djédaa	23 au 24/01/03	Milieu naturel (steppe herbeuse)	14°01'N-19°01'E	60	0	0%
14°Nx20°E	Tchad	Abéché	21 au 22/01/03	Cultures de Al Miamine	13°46'N-19°44'E	39	0	0%
				Milieu naturel + cultures d'Assayala	13°42'N-19°48'E	21	0	
14°N-22°E	Tchad	Adré	19 au 20/01/03	Village de Sounoute /Willicouré	14°08'N-21°50'E	33	0	0%
				Cultures	14°09'N-21°48'E	27	0	

2B - Transect Nord-Sud sur le 12^{ème} méridien Ouest (Mauritanie/Sénégal)

Localisation	Pays	Localité proche	Date de collecte	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers positifs	% global d'infestation
23°N	Mauritanie	Zouérat	30/11/04	Milieu naturel (montagnes + dunes)	22°59'N-12°00'W	31	0	2,8%
				Milieu naturel (bas fond)	22°55'N-12°09'W	5	1	
22°N	Mauritanie	Touajil	28 au 29/11/04	Ferme agricole de Touajil	22°07'N-12°41'W	24	0	0%
				Milieu naturel (montagnes + dunes)	22°02'N-12°49'W	6	0	
21°N	Mauritanie	Choûm	26 au 27/11/04	Ancien village de Aggui	21°10'N-13°06'W	2	0	3,2%
				Milieu naturel (montagnes + steppe)	21°01'N-13°07'W	29	1	
20°N	Mauritanie	Atar	21/11/04	Village de Oujeft	20°01'N-13°03'W	12	0	6,7%
				Milieu naturel (rivière + montagnes)	20°00'N-13°03'W	10	2	

				Palmeraie + cultures		8	0	
19°N	Mauritanie	Tidjikja	20 au 21/11/04	Village de Rachid	18°47'N-11°41'W	15	1	3,3%
				Palmeraie		12	0	
				Milieu naturel (guelta + palmeraie)	18°53'N-11°49'W	3	0	
18°N	Mauritanie	Moudjéria	18 au 19/11/04	Village de Nbeïka	17°59'N-12°14'W	14	6	44,4%
				Milieu naturel + palmeraie		13	6	
17°N	Mauritanie	Guérou	17/11/04	Village d'Iguéva	17°00'N-11°57'W	3	0	0%
				Milieu naturel (dunes)		15	0	
				Village de Kamour	17°05'N-12°03'W	7	0	
				Cultures		7	0	
16°N	Mauritanie	Mbout	13/11/04	Village de Miloatane/Amtilane	15°56'N-12°04'W	7	0	26,7%
				Milieu naturel + cultures	15°58'N-12°05'W	12	0	
				Village de Soufa	15°56'N-12°01'W	7	5	
				Environs du village d'Aguéneïtine I	15°55'N-12°02'W	4	3	
15°N	Mauritanie	Sélibabi	15/11/04	Village de Mbalou	15°01'N-12°04'W	20	15	56,7%
				Milieu naturel	15°02'N-12°05'W	10	2	
14°N	Sénégal			Voir transect Ouest-Est				53,3%

2C - Transect Nord-Sud sur le 2^{ème} méridien Est (Mali/Niger/Burkina Faso/Bénin)

Localisation	Pays	Localité proche	Date de collecte	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers positifs	% global d'infestation
19°N	Mali	Adrar Ouzzeine	06 au 07/02/04	Milieu naturel (montagnes + vallée)	19°01'N-01°50'E	39	0	0%
				Milieu naturel (steppe à <i>Acacia</i> sp)	19°00'N-01°46'E	21	0	
18°N	Mali	I-n- Tebezas	09 au 10/02/04	Milieu naturel (montagnes + vallée)	18°01'N-01°49'E	45	0	0%
				Milieu naturel (vallée à <i>C. procera</i>)	17°56'N-01°53'E	15	0	
17°N	Mali	Amastaouas	10 au 11/02/04	Milieu naturel (vallée à <i>C. procera</i>)	17°01'N-02°06'E	40	0	0%
				Milieu naturel (dunes)	17°02'N-02°09'E	20	0	
16°N	Mali	Ménaka	12 au 13/02/04	Milieu naturel (steppe arbustive)	16°05'N-02°09'E	60	0	0%
15°N	Niger	Tilola	14 au 15/02/04	Milieu naturel (dunes + bas fond)	15°09'N-02°04'E	60	0	0%
14°N	Niger	Ouallam		Voir transect Est-Ouest				0%
13°N	Niger	Torodi	17 au 18/02/04	Village de Piliki	13°08'N-01°57'E	16	0	0%
				Cultures		44	0	
12°N	Burkina Faso	Diapaga	27 au 28/01/04	Village de Mangou	12°04'N-01°52'E	21	0	0%
				Milieu naturel (brousse tigrée)		40	0	

11°N	Bénin	Kérou	20 au 21/02/04	Village de Boutéré	10°51'N-02°08'E	30	0	0%
				Milieu naturel (forêt) + cultures		20	0	
				Milieu naturel (bas fond + cultures)		10	0	
10°N	Bénin	Péhunko	22 au 23/02/04	Village de Kpêré	09°59'N-01°53'E	30	0	0%
				Cultures		12	0	
				Milieu naturel (forêt)	10°00'N-01°54'E	18	0	
09°N	Bénin	Bassila	24 au 25/02/04	Village de Igbéré	08°59'N-01°57'E	30	0	0%
				Milieu naturel (plateau rocheux)	09°00'N-01°59'E	12	0	
				Cultures	08°59'N-01°56'E	18	0	
08°N	Bénin	Banté	26 au 27/02/04	Village de Doyissa	07°59'N-01°59'E	30	0	0%
				Milieu naturel (bas fond) + cultures + friches	07°59'N-01°58'E	30	0	
07°N	Bénin	Lanta	28 au 29/02/04	Milieu naturel + cultures	07°06'N-01°52'E	60	0	0%

2D – Transect Nord-Sud sur le 14^{ème} méridien Est (Tchad/Cameroun)

Localisation	Pays	Localité proche	Date de collecte	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers positifs	% global d'infestation
14°N	Tchad			Voir transect Est-Ouest				0%
13°N	Cameroun	Kousséri	05 au 07/02/03	Village de Yik	12°30'N-14°35'E	15	0	0%
				Milieu naturel (steppe + bas fond)		22	0	
				Village de Abouki II	12°30'N-14°36'E	8	0	
				Milieu naturel (dunes près du Chari)	12°25'N-14°46'E	15	0	
12°N	Cameroun	Mora	01 au 03/02/03	Village de Kossa	11°07'N-14°19'E	27	0	0%
				Milieu naturel (savane arbustive)		27	0	
				Cultures	11°09'N-14°22'E	6	0	
				Milieu naturel de Mogonyé	11°05'N-14°21'E	19	0	
11°N	Cameroun	Maroua	29 au 30/01/03	Village de Mogom	10°30'N-14°25'E	30	0	0%
				Cultures		28	0	
				Milieu naturel (savane)		6	0	
				Cultures de Dir	10°20'N-14°27'E	15	0	
10°N	Tchad	Pala	08 au 09/02/03	Village de Doué	09°16'N-14°41'E	30	0	0%
				Cultures		30	0	
9°N	Cameroun	Tcholliré	11 au 12/02/03	Village de Diéra	08°31'N-13°30'E	30	0	0%
				Cultures + friches		30	0	

2E – Enquêtes complémentaires (Tchad, Niger, Mali, Mauritanie)

Localisation	Pays	Localité proche	Date de collecte	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers positifs	% global d'infestation
12°N x 15°E	Tchad	Ndjaména	16 au 17/02/03	Rive droite du Chari (cultures)	12°05'N-15°06'E	30	0	0%
				Village de Toukra-Arabe (maisons)	12°01'N-15°06'E	20	0	0%
				Village de Toukra-Arabe (champs)	12°01'N-15°06'E	13	0	0%
13°N x 18°E	Tchad	Ati	24/01/03	Milieu naturel (savane arborée)	13°00'N-18°06'E	15	0	0%
12°N x 18°E	Tchad	Bitkine	25 au 26/02/03	Village de Mataya (maisons, champs)	11°59'N-18°02'E	20	0	0%
18/19°N x 8/9°E	Niger	Aïr-Ténéré	28/02 au 04/03/05	Oasis d'Iférouane	19°04'N-08°26'E	15	0	0%
				Tchi-n-Taghoda (vallée d'oued)	18°54'N-08°33'E	10	0	0%
				Environs du Taggout (vallée d'oued)	18°43'N-08°30'E	5	0	0%
				Oasis de Tchintoulous	18°34'N-08°47'E	7	0	0%
				Tessa-n-Jakanar (vallée d'oued)	18°38'N-09°05'E	7	0	0%
				Ténéré près du Taghmert	19°06'N-09°02'E	5	0	0%
				Ténéré près du Tamgak	19°09'N-08°56'E	6	0	0%
				Ténéré près du Chiriet	19°17'N-09°14'E	5	0	0%
14°N x 1°30'E	Niger	Farié	23 au 24/02/05	Bord du fleuve Niger	14°01'N-01°31'E	30	0	0%
13°30'N x 02°E	Niger	Niamey	24 au 25/02/05	Bord du fleuve Niger	13°32'N-02°01'E	30	0	0%
16°N x 04°W	Mali	Niafouké	18 au 19/01/05	Environs de Niafouké (savane)	15°54'N-04°08'W	15	0	0%
				Village de Gaoudel	15°59'N-04°05'W	11	0	0%
				Environs de Gaoudel (cultures,savane)	16°00'N-04°05'W	20	0	0%
				Village de Koyrétao	16°04'N-03°56'W	9	0	0%
				Environs de Koyrétao (savane)	16°04'N-03°56'W	5	0	0%
16°N x 00°WE	Mali	Gao	22 au 23/01/05	Environs de Haoussa-Foulane	15°59'N-00°08'E	15	4	27%
				Environs de Alka Koïra (vallée Niger)	16°10'N-00°03'E	10	7	70%
				Environs d'Ouabaria (vallée Niger)	16°11'N-00°02'E	5	2	40%
15°N x 04°W	Mali	Konna	24/01/05	Environs de Sama (vallée Niger)	14°55'N-03°53'W	10	1	10%
14°N x 04°W	Mali	Sofara	25/01/05	Environs de Molibana (vallée Bani)	14°00'N-04°14'W	5	2	40%
13°N x 07°W	Mali	Kénenkou	12 au 13/03/05	Environs de Kénenkou (vallée Niger)	13°05'N-07°15'W	30	0	0%
13°N x 05°W	Mali	San	14 au 15/03/05	Environs de San (vallée Bani)	13°17'N-04°56'W	30	0	0%
12°30'N x 08°W	Mali	Bamako	28 au 30/01/05	Environs de Bamako (vallée Niger)	12°30'N-08°08'W	30	0	0%
				Environs de Bamako (vallée Niger)	12°33'N-08°07'W	30	0	0%
20°N x 14°W	Mauritanie	Akjoujt	12/10/04	Araguïb el Jahfa (vallée d'oued)	19°47'N-12°14'W	13	0	0%
18°N x 12°W	Mauritanie	Nbeika	14 au 16/10/04	Palmeraie de Nbeika	17°59'N-12°14'W	30	18	60%

Echantillonnage des micro-mammifères

Lors de chaque étude en transect Nord-Sud, des captures de rongeurs ont été réalisées. Les résultats de ces captures sont indiqués dans les tableaux 3A à 3C.

Tableau 3A : Effectifs et lieu de captures de micromammifères au Tchad et au Cameroun (étude en transect Nord-Sud)

Localisation	Pays	Localité proche	Nombre de Captures	Espèces Rongeurs et/ou Insectivores
13°N-12°N	Cameroun	Kousseri	40 en piègeage 5 captures manuelles	2 <i>Atelerix albiventris</i> 4 <i>Crocidura sp.</i> 4 <i>Desmodilliscus braueri</i> 14 <i>Mastomys sp.</i> 13 <i>Tatera sp.</i> 7 <i>Taterillus sp.</i>
12°N-11°N	Cameroun	Mora	76 en piègeage	27 <i>Arvicanthis sp.</i> 1 <i>Atelerix albiventris</i> 3 <i>Lemniscomys zebra</i> 5 <i>Mastomys sp.</i> 8 <i>Mastomys erythroleucus</i> 24 <i>Tatera sp.</i> 5 <i>Taterillus sp.</i> 3 <i>Xerus erythropus</i>
11°N-10°N	Cameroun	Maroua	55 en piègeage 3 captures manuelles	15 <i>Arvicanthis sp.</i> 10 <i>Crocidura sp.</i> 2 <i>Desmodilliscus braueri</i> 31 <i>Mastomys sp.</i>
10°N-9°N	Tchad	Pala	50 en piègeage 2 captures manuelles	1 <i>Crocidura sp.</i> 24 <i>Mastomys erythroleucus</i> 23 <i>Mastomys sp.</i> 1 <i>Tatera sp.</i> 1 <i>Uranomys ruddi</i>
9°N-8°N	Cameroun	Tcholliré	28 en piègeage	2 <i>Arvicanthis sp.</i> 7 <i>Lemniscomys zebra</i> 16 <i>Mastomys sp.</i> 1 <i>Ratus ratus</i> 2 <i>Taterillus sp.</i>
12°N x 18°E	Tchad	Bitkine	1 capture manuelle	1 <i>Mastomys sp.</i>
Total			260	12 espèces

Tableau 3B : Effectifs et lieu de captures de micromammifères en Mauritanie (étude en transect Nord-Sud).

Famille	Espèce	Nombre spécimens	Localités proches des sites de capture	Rapport Piège/capt.man.
Muridae	<i>Mastomys erythroleucus</i>	6	Mbout	6 / 0
	<i>Mus musculus</i>	9	Atar	8 / 1
	<i>Acomys airensis</i>	35	Tidjikja, Atar	35 / 0
Gerbillidae	<i>Gerbillus tarabuli</i>	19	Moudjéria, Atar, Touajil	18 / 1
	<i>Gerbillus gerbillus</i>	11	Moudjéria, Touajil	10 / 1
	<i>Gerbillus henleyi</i>	1	Tidjikja	1 / 0
	<i>Gerbillus</i> sp	19	Mbout, Moudjéria, Tidjikja, Atar, Zouérat	19 / 0
	<i>Taterillus</i> sp	1	Mbout	0 / 1
	<i>Desmodilliscus braueri</i>	2	Mbout	0 / 2
Dipodidae	<i>Jaculus jaculus</i>	23	Moudjéria, Zouérat	0 / 23
Ctenodactylidae	<i>Felovia vae</i>	1	Atar	1 / 0
Erinaceidae	<i>Atelerix albiventris</i>	1	Mbout	1 / 0
Total		128		99 / 29

Tableau 3C : Effectifs et lieu de captures de micromammifères au Mali, Niger, Burkina Faso et Bénin en janvier et février 2004 (étude en transect Nord-Sud)

Localisation	Pays	Nombre de captures	Espèces de Rongeurs et/ou d’Insectivores	Famille
19°N x 02°E	Mali	35 en piègeage 3 captures manuelles	19 <i>Gerbillus tarabuli</i> , 7 <i>Gerbillus nanus</i> 7 <i>Gerbillus pyramidum</i> , 1 <i>Gerbillus campestris</i> , 1 <i>Arvicanthis niloticus</i> , 3 <i>Jaculus jaculus</i>	Gerbillidae, Dipodidae et Muridae
18°N x 02°E	Mali	10 en piègeage 3 captures manuelles	5 <i>Gerbillus tarabuli</i> , 3 <i>Gerbillus nanus</i> 2 <i>Gerbillus pyramidum</i> , 2 <i>Jaculus jaculus</i> 1 <i>Arvicanthis niloticus</i>	Gerbillidae, Dipodidae et Muridae
17°N x 02°E	Mali	15 en piègeage 7 captures manuelles	7 <i>Arvicanthis niloticus</i> , 5 <i>Gerbillus nanus</i> , 2 <i>Taterillus</i> sp, 2 <i>Gerbillus tarabuli</i> , 6 <i>Jaculus jaculus</i>	Muridae, Dipodidae et Gerbillidae
15°N x 02°E	Niger	42 en piègeage 1 captures manuelle	21 <i>Gerbillus nigeriae</i> , 3 <i>Acomys airensis</i> 11 <i>Gerbillus tarabuli</i> , 1 <i>Arvicanthis niloticus</i> , 6 <i>Mastomys erythroleucus</i> , 1 <i>Hemiechinus aethiopicus</i>	Gerbillidae Muridae et Erinaceidae
14°N x 06°E	Niger	3 captures manuelles	2 <i>Gerbillus nigeriae</i> , 1 <i>Desmodilliscus braueri</i>	Gerbillidae
14°N x 08°E	Niger	5 captures manuelles	4 <i>Gerbillus nigeriae</i> , 1 <i>Gerbillus nanus</i>	Gerbillidae
13°N x 02°E	Niger	86 en piègeage 1 capture manuelle	6 <i>Arvicanthis</i> sp, 31 <i>Mastomys natalensis</i> 35 <i>Mastomys erythroleucus</i> , 7 <i>Tatera</i> sp., 8 <i>Taterillus</i> sp	Muridae et Gerbillidae
11°N x 02°E	Bénin	54 en piègeage 2 captures manuelles	1 <i>Tatera kempi</i> , 4 <i>Tatera</i> sp, 8 <i>Mastomys erythroleucus</i> , 1 <i>Myomys</i> \square <i>daltoni</i> , 1 <i>Lemniscomys</i> sp, 1 <i>H. gambianus</i> , 1 <i>Atelerix albiventris</i> , 1 <i>Taterillus</i> sp, 38 <i>Mastomys natalensis</i>	Muridae, Gerbillidae, Sciuridae et Erinaceidae
09°N x 02°E	Bénin	112 en piègeage (dont 3 non déterminés)	20 <i>Mastomys erythroleucus</i> , 16 <i>Mastomys</i> sp, 1 <i>Lemniscomys bellieri</i> , 14 <i>Lemniscomys</i> sp, 11 <i>Uranomys ruddi</i> , 2 <i>Crocidura</i> sp, 2 <i>Tatera kempi</i> , 5 <i>Tatera</i> sp, 6 <i>Myomys daltoni</i> , 22 <i>Mastomys natalensis</i> , 9 <i>Myomys derooi</i> , 1 <i>Arvicanthis</i> sp, 3 non déterminés	Muridae Soricidae et Gerbillidae
08°N x 02°E	Bénin	60 en piègeage	6 <i>Mastomys</i> sp, 2 <i>Crocidura</i> sp., 17 <i>Mastomys erythroleucus</i> , 2 <i>Uranomys ruddi</i> , 23 <i>Mastomys natalensis</i> , 6 <i>Myomys derooi</i> , 4 <i>Rattus rattus</i>	Muridae et Soricidae
07°N x 02°E	Bénin	27 captures manuelles	9 <i>Mastomys natalensis</i> , 7 <i>Rattus rattus</i> 5 <i>Cricetomys gambianus</i> , 5 <i>Arvicanthis rufinus</i> , 1 <i>Tatera kempi</i>	Muridae Gerbillidae et Cricetomyidae
Total		466	29 espèces	7 familles

Outre les échantillonnages systématiques de micro-mammifères réalisés lors des études en transect Nord-Sud, des captures occasionnelles de micromammifères ont été réalisées lors de l'étude en transect Ouest-Est, lors des enquêtes complémentaires et lors des déplacements entre les sites d'études. Un total de 76 micro-mammifères a ainsi été capturé manuellement et conservé pour des études faunistiques. Une partie de ces spécimens a également été l'objet d'une goutte épaisse pour la recherche de *B. crocidurae*.

Par ailleurs, des séances de piégeage ont été effectuées à Batamani-Daga (14°52'N, 04°03'W) près de Mopti dans le delta central du Niger au Mali. Un total de 107 micro-mammifères a été capturé et a été l'objet d'une goutte épaisse pour la recherche de *B. crocidurae*.

Etude microgéographique

Echantillonnage en transect Nord-Sud par demi-degré carré, au Sénégal

La recherche de la tique vectrice de la borréliose *A. sonrai* a été réalisée sur le 16^{ème} méridien ouest de 14°00'N à 16°30'N par demi-degré carré. Le tableau 4 présente le détail de cet échantillonnage. Les résultats de collecte de tiques réalisées en transect Ouest-Est au Sénégal ont été présentés précédemment. Enfin, deux sites complémentaires ont fait l'objet d'échantillonnage pour les besoins d'élevage et de mise au point des marqueurs permettant le génotypage des tiques : 1) Bandia (14°50'N-16°53'W) avec 12 terriers examinés en milieu naturel dont 10 infestés par *A. sonrai*, soit un taux d'infestation de 83,3%, et 2) Kolobane (14°38'N-15°42'W) avec 40 terriers examinés en péri-domestique et zone de cultures dont 6 infestés par *A. sonrai*, soit un taux d'infestation de 15%.

Tableau 4 : résultats de l'échantillonnage en transect au Sénégal

Localisation	Localité	Site de collecte	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers infestés	% global d'infestation
16°30'N	Rosso	Village de Khor	16°29'N-15°54'W	30	0	12,2%
		Zone de cultures de Khor		30	0	
		Richard-Toll	16°27'N-15°42'W	30	11	
16°00'N	Saint-Louis	Zone de cultures Ganket	15°55'N-15°57'W	17	2	16,6%
		Milieu naturel K. Momar.	15°55'N-15°57'W	14	3	
		Milieu naturel Savoigne	16°10'N-15°57'W	5	1	
15°30'N	Koki	Village Kanène Khar	15°30'N-16°01'W	15	13	90,0%
		Milieu naturel et cultures		15	14	
15°00'N	Darou Mousti	Zone de cultures	15°04'N-16°00'W	5	0	25,7%
		Milieu naturel		30	9	
14°30'N	Gossas	Village de Ina et environs	14°30'N-16°01'W	30	23	41,4%
		Colobane et environs	14°38'N-15°42'W	40	6	
Total				261	82	31,4%

Echantillonnage en limite sud de l'extension du vecteur

Entre août 2002 et juillet 2003, 22 villages du Siné-Saloum en limite d'extension sud de la borréliose ont été examinés pour la présence d'*A. sonrai*. Les collectes étaient intra- et péri-domiciliaires. En

outre, sur un transect reliant Keur Aliou Gueye et Ndiop, des terriers extradomiciliaires ont été examinés dans les zones de cultures sur 200m à 600m autour des villages. Les détails de l'échantillonnage sont indiqués dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Echantillonnage en limite sud d'extension de la borréliose au Sénégal

Collectes intra- et péri-domiciliaires					
Localité	Date	Coordonnées	Terriers examinés	Terriers infestés	% global d'infestation
Keur Aliou Gueye	23 au 24/06/03	13°47'N-16°24'W	50	3	6%
Keur Mama Lamine	25 au 26/06/03	13°46'N-16°23'W	50	1	2%
Niouro Alassane Tall	27 au 28/06/03	13°46'N-16°20'W	47	5	10,6%
Bani	25 au 27/10/02	13°45'N-16°28'W	50	27	54%
Firdaossi	23 au 24/10/02	13°45'N-16°27'W	44	19	42,1%
Néma Ba	20 au 22/10/02	13°44'N-16°28'W	50	29	58%
Santamba	17 au 18/10/02	13°44'N-16°25'W	50	2	4%
Keur Lahine Sossé	19 au 20/10/02	13°44'N-16°25'W	41	5	12,1%
Keur Lahine Fatim	24 au 25/08/02	13°44'N-16°24'W	50	0	0%
Sabouya	15 au 16/10/02	13°43'N-16°25'W	50	19	38%
Touba Nding	13 au 14/10/02	13°43'N-16°25'W	50	10	20%
Dielmo	17 au 21/04/02	13°43'N-16°24'W	61	9	14,7%
Dielmo	15 au 24/06/02	13°43'N-16°24'W	181	11	6%
Dielmo	1 ^{er} au 03/9/02	13°43'N-16°24'W	50	21	42%
Dielmo	27 au 29/10/02	13°43'N-16°24'W	50	13	26%
Néma Nding	11 au 12/10/02	13°42'N-16°25'W	50	1	2%
Médina Santhie	26 au 27/08/02	13°42'N-16°24'W	44	1	2,2%
Passi Ndenderling	28 au 29/08/02	13°41'N-16°23'W	50	1	2%
Ndiop Keur Omar Sarr	30/08/02	13°41'N-16°23'W	50	0	0%
Same	08 au 09/07/03	13°37'N-16°25'W	50	0	0%
Sirmang	10 au 11/08/03	13°37'N-16°23'W	50	0	0%
Keur Moussa Séni	12 au /08/03	13°37'N-16°21'W	50	0	0%
Madina Djikoye	13 au 15/09/02	13°37'N-16°17'W	50	0	0%
Keur Lamine Diame	16 au 19/09/02	13°37'N-16°15'W	22	0	0%
Santhie Ram	20 au 22/09/02	13°37'N-16°14'W	50	0	0%
Collectes extradomiciliaires en zones de cultures					
Localité	Date	Situation	Terriers examinés	Terriers infestés	% global d'infestation
Keur Aliou Gueye	22/05/03	Au sud du village	25	0	0%
Keur Lahine Sossé	20/05/03	Au sud du village	25	4	22,1%
	21/05/03	Au nord du village	25	7	
Dielmo	18/05/03	Entre Dielmo et S.Mouride	13	1	8%
	17/05/03	Au sud du village	30	2	
	19/05/03	Au nord du village	57	5	
Médina Santhie	15/05/03	Au sud du village	26	0	2%
	16/05/03	Au nord du village	25	1	
Passy Ndenderling	13/05/03	Au sud du village	25	2	6%
	14 au 15/05/03	Au nord du village	25	1	
Ndiop Keur Omar Sarr	12 au 13/05/03	Au nord du village	50	1	2%

Echantillonnages de tiques et de rongeurs à Dielmo et Ndiop

Entre mars et juin 2002, tous les terriers présents dans les concessions de Dielmo (village de Dielmo et son hameau voisin Santhie Mouride, distant de 300 mètres) et de Ndiop ont été systématiquement examinés pour la recherche d'*A. sonrai*. En outre, des captures intradomiciliaires de micromammifères réservoirs de la borréliose ont été effectuées en mars 2002 à Ndiop et en avril 2002 à Dielmo. Les tableaux 6,7 et 8 donnent le détail des résultats d'échantillonnage et des animaux examinés dans ces deux villages en 2002 ainsi que lors d'une étude similaire effectuée à Dielmo en 1991

Tableau 6 : Résultats des recherches d'*A. sonrai* dans les terriers de rongeurs à Dielmo et à Ndiop

1991-1992	DIELMO			NDIOP
	Dielmo	Santhie-Mouride	Total	
Terriers examinés	210	33	243	-
Terriers infestés	4	13	17	-
% d'infestation	1,9%	39,4%	7%	-
2002				-
<i>Avril</i>				
Terriers examinés	2	59	61	-
Terriers infestés	0	9	9	-
<i>Juin</i>				
Terriers examinés	181	0	181	-
Terriers infestés	11	0	11	-
<i>Septembre</i>				
Terriers examinés	25	25	50	-
Terriers infestés	8	13	21	-
<i>Octobre</i>				
Terriers examinés	26	24	50	50
Terriers infestés	0	13	13	0
% infestation 2002	8,1%	32,4%	15,7%	0%

Tableau 7 : Captures de rongeurs à Dielmo et à Ndiop

	1991		2002		
	Dielmo	S. Mouride	Dielmo	S. Mouride	Ndiop
Durée de capture	8	8	8	8	8
Nuits pièges	1503	191	793	197	857
Nombre de captures	238	21	46	19	61
Rendement de capture	15,8%	10,9%	5,8%	9,6%	7%
Espèces capturées	7	3	5	3	5
<i>Mastomys erythroleucus</i>	213	17	20	10	25
<i>Crocidura sp.</i>	0	1	8	5	28
<i>Arvicanthis niloticus</i>	14	3	5	0	1
<i>Rattus rattus</i>	1	0	3	0	3
<i>Myomys daltoni</i>	1	0	1	1	0
<i>Mus musculus</i>	0	0	7	3	4
<i>Tatera gambian</i>	3	0	0	0	0
<i>Cricetomys gambianus</i>	5	0	2	0	0
<i>Heliosciurus gambianus</i>	1	0	0	0	0

Résultats des analyses de laboratoire

Etude de l'infection chez les rongeurs

Enquêtes au Tchad et au Cameroun

Sur 260 petits mammifères capturés au Tchad et au Cameroun, 232 ont été examinés pour la recherche de *Borrelia* par au moins une des deux méthodes de diagnostic utilisées, l'examen direct d'une goutte épaisse du sang de l'animal (environ 0,5 ul de sang examiné) et l'inoculation d'un broyat de cerveau à la souris blanche (Tableau 8). La méthode d'inoculation de sang n'a pas été utilisée conjointement à celle de l'inoculation d'un broyat de cerveau en raison de la sensibilité plus élevée de cette dernière dans le dépistage des *Borrelia* chez les petits rongeurs (Diatta *et al.*, 1994). Des gouttes épaisses ont été réalisées chez 223 micromammifères et leur lecture n'a pas permis de mettre en évidence la présence de *Borrelia crocidurae*. L'inoculation d'un broyat de cerveau à la souris blanche a aussi été négative chez 232 animaux suivis pendant 10 jours après l'inoculation.

Tableau 8 : Méthodes de recherche des *Borrelia* et effectif des animaux examinés au Tchad et au Cameroun

Espèces capturées	Total animaux examinés		Total animaux positifs			
	G.E directe	Cerveau	Goutte épaisse directe	Inoculation broyat cerveau		
				J3	J6	J10
<i>Mastomys erythroleucus</i>	51	50	0	0	0	0
<i>Mastomys natalensis</i>	25	25	0	0	0	0
<i>Mastomys kollmanspergeri</i>	38	38	0	0	0	0
<i>Mastomys sp</i>	4	3	0	0	0	0
<i>Arvicanthis sp</i>	36	40	0	0	0	0
<i>Tatera sp</i>	33	35	0	0	0	0
<i>Taterillus congicus</i>	2	2	0	0	0	0
<i>Taterillus sp</i>	1	2	0	0	0	0
<i>Taterillus lacustris</i>	2	5	0	0	0	0
<i>Lemniscomys zebra</i>	8	8	0	0	0	0
<i>Desmodilliscus braueri</i>	7	7	0	0	0	0
<i>Rattus rattus</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Xerus erythropus</i>	1	1	0	0	0	0
<i>Crocidura sp</i>	14	15	0	0	0	0
Total	223	232	0	0	0	0

Enquêtes au Mali, Niger et Bénin

Etude en transect Nord-Sud

Lors de l'étude en transect Nord-Sud, sur 466 petits mammifères capturés au Mali, Niger et Bénin, 348 ont été examinés pour la recherche de *Borrelia* par au moins une des deux méthodes de diagnostic utilisées, l'examen direct d'une goutte épaisse du sang de l'animal (environ 0,5 ul de sang examiné) et l'inoculation d'un broyat de cerveau à la souris blanche. Ces analyses n'ont pas permis de mettre en évidence la présence de *Borrelia crociduræ* chez les micromammifères étudiés (Tableau 9).

Tableau 9 : Résultats de la recherche de *B. crociduræ* chez les micromammifères capturés lors de l'étude en transect Nord-Sud au Mali, Niger et Bénin.

Espèce	Total animaux examinés		Total animaux positifs	
<i>Mastomys erythroleucus</i>	1	0	1	0
<i>Mastomys natalensis</i>	105	104	0	0
<i>Mastomys sp</i>	15	13	0	0
<i>Arvicanthis niloticus</i>	9	9	0	0
<i>Arvicanthis sp</i>	5	4	0	0
<i>Acomys airensis</i>	3	3	0	0
<i>Gerbillus tarabuli</i>	37	37	0	0
<i>Gerbillus pyramidum</i>	9	9	0	0
<i>Gerbillus nanus</i>	13	13	0	0
<i>Gerbillus campestris</i>	1	1	0	0
<i>Gerbillus nigeriae</i>	21	21	0	0
<i>Tatera gambiana</i>	1	1	0	0
<i>Tatera sp</i>	8	8	0	0
<i>Taterillus sp</i>	6	6	0	0
<i>Jaculus jaculus</i>	11	11	0	0
<i>Uranomys ruddi</i>	13	13	0	0
<i>Myomys daltoni</i>	7	7	0	0
<i>Myomys derooi</i>	12	12	0	0
<i>Cricetomys gambianus</i>	3	0	0	0
<i>Lemniscomys sp</i>	13	13	0	0
<i>Heliosciurus gambianus</i>	1	1	0	0
<i>Rattus rattus</i>	9	4	0	0
<i>Crocidura sp</i>	4	4	0	0
<i>Atelerix albiventris</i>	1	1	0	0
Total	380	368	0	0

Etudes complémentaires au Mali

Une infection à *B. crocidurae* a été mise en évidence chez un *Mastomys huberti* provenant d'une série de 107 micromammifères capturés à Batamani-Daga (14°52'N, 04°03'W) dans le delta central du Niger près de Mopti (Mali) et prélevés en goutte épaisse.

De même, le *Mastomys erythroleucus* capturé lors des opérations d'aspiration dans le village de Diougounté (14°07'N, 09°58'W) présentait une goutte épaisse directe positive pour *B. crocidurae*.

Le détail des résultats est présenté dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Résultats de la recherche de *B. crocidurae* chez les micromammifères capturés lors d'études complémentaires au Mali.

Espèce	Total animaux examinés (goutte épaisse directe)	Total animaux positifs (goutte épaisse directe)
<i>Mastomys erythroleucus</i>	4	1
<i>Mastomys natalensis</i>	12	0
<i>Mastomys huberti</i>	77	1
<i>Arvicanthis sp</i>	10	0
<i>Crocidura sp</i>	4	0
Total	108	2 (1,9%)

Enquêtes en Mauritanie

Sur les 126 micromammifères capturés lors de l'étude en transect Nord-Sud, 102 ont été l'objet de prélèvements de sang ou de cerveau pour la recherche d'une infection à *B. crocidurae*. 14 ont été gardés vivants pour leur caryotypage à Dakar et 10 sont décédés ou se sont évadés avant leur autopsie. Les gouttes épaisses directes ont toutes été négatives. De même, il n'a pas été mis en évidence d'infection à *B. crocidurae* chez les souris blanches contrôlées à J3, J6 et J10 après avoir été inoculées avec du sang ou du broyat de cerveau des micromammifères capturés (Tableau 11).

Tableau 11 : Résultats de la recherche de *B. crocidurae* chez les micromammifères capturés lors de l'étude en transect Nord-Sud en Mauritanie.

Espèce	Total animaux examinés			Total animaux positifs		
	G.E. directe	Sang	Cerveau	G.E. directe	Sang	Cerveau
<i>Mastomys erythroleucus</i>	4	6	6	0	0	0
<i>Mus musculus</i>	8	8	8	0	0	0
<i>Acomys airensis</i>	25	25	25	0	0	0
<i>Gerbillus tarabuli</i>	17	19	19	0	0	0
<i>Gerbillus gerbillus</i>	10	10	10	0	0	0
<i>Gerbillus henleyi</i>	1	1	1	0	0	0
<i>Gerbillus sp</i>	6	6	6	0	0	0
<i>Taterillus sp</i>	1	1	1	0	0	0
<i>Jaculus jaculus</i>	23	22	21	0	0	0
<i>Felovia vae</i>	1	1	1	0	0	0
<i>Atelerix albiventris</i>	1	1	1	0	0	0
Total	97	100	99	0	0	0

Enquêtes au Sénégal dans les villages de Dielmo et de Ndiop

Sur 126 petits mammifères capturés à Dielmo et à Ndiop, 92 ont été examinés pour la recherche de *Borrelia* par au moins une des trois méthodes diagnostiques : i) la goutte épaisse directe, ii) l'inoculation de sang à la souris blanche, et iii) l'inoculation d'un broyat de cerveau à la souris blanche (Tableau 12)

Au total, 21 micro-mammifères (22,8%) ont été trouvés infectés par au moins une de ces trois méthodes (Tableaux 6 et 7). Ils provenaient de Dielmo dans 17 cas (6 *Mastomys erythroleucus*, 2 *Rattus rattus*, 1 *Mus musculus* et 8 *Crocidura* sp) et de Ndiop dans 4 cas (2 *Mastomys erythroleucus*, 1 *Arvicanthis niloticus* et 1 *Crocidura* sp). La proportion de micro-mammifères trouvés porteurs de *Borrelia* a été de 32,6% à Dielmo et de 10% à Ndiop.

Pour 19 des micromammifères trouvés porteurs de *B. crocidurae*, c'est uniquement l'inoculation de cerveau qui a permis la mise en évidence de l'infection (15 à Dielmo et 4 à Ndiop). Une *Crocidura* sp provenant de Dielmo a été trouvée infectée par les deux méthodes d'inoculation et un *Mastomys erythroleucus* capturé à Dielmo a été trouvé positif par les trois méthodes d'examen. Cet animal est le seul trouvé positif à l'examen d'une goutte épaisse directe (sur 81 micro-mammifères examinés par cette méthode, dont 42 à Dielmo et 39 à Ndiop).

Tableau 12 : Résultats de la recherche de *B. crocidurae* chez les micromammifères capturés à Dielmo et à Ndiop

Espèces capturées	Total animaux examinés		Total animaux positifs				
	G.E directe	Cerveau	G.E. directe	Inoculation sang		Inoculation cerveau	
				J3	J6	J3	J6
<i>Mastomys erythroleucus</i>	34	38	1/34	1/34	1/34	8/38	8/38
<i>Arvicanthis niloticus</i>	6	6	0/6	0/6	0/6	1/6	1/6
<i>Mus musculus</i>	5	7	0/5	0/5	0/5	1/7	1/7
<i>Crocidura</i> sp	29	33	0/29	1/29	1/29	9/33	9/33
<i>Cricetomys gambianus</i>	1	1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1
<i>Myomys daltoni</i>	2	2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2
<i>Rattus rattus</i>	4	5	0/4	0/4	0/4	2/5	2/5
Total	81	92	1/81	2/81		21/92	

Analyse génétique des tiques collectées

Choix et mise au point des techniques

Pour le génotypage des spécimens d'*A. sonrai*, il a été choisi d'utiliser des marqueurs microsatellites. Chez les *Ixodidae*, des marqueurs de ce type ont été précédemment définis, mais il était improbable qu'ils conviennent au génotypage de tiques « molles ». Ainsi, notre objectif a été de définir une banque de microsatellites spécifique pour *A. sonrai*. Compte tenu de la faible abondance de microsatellites chez certains arthropodes, la méthode de banque enrichie en microsatellites a été retenue.

Nous avons suivi la méthode développée par Billote *et al.* (1999) pour les plantes tropicales. Nous sommes partis d'un pool d'une dizaine de tiques collectées dans la forêt de Bandia (14°37'N, 17°01'W) près de Dakar et conservées vivantes en élevage. Nous avons obtenu 46 clones contenant potentiellement des microsatellites dinucléotidiques, 9 avec des trinucléotides et 21 avec tétranucléotides. Au final, 17 ont été choisis dont la taille variait de 112 à 197 pbs. Les amorces permettant leur amplification ont alors été définies d'après la séquence des inserts à l'aide du logiciel Primer 3 (Tableau 13)

Tableau 13. Clones retenus

Nom	Motif microsatellite	Primers F & R	Taille attendue pb
TG2.23'	(TC)18(CA)16	As1/F : TGGAACATCTTTGCACTTGG As1/R : CTAAGCACCACCCATTTTCC	184
TG1.11'	(CA)13	As2/F : CCAGGTGGCTACTTGAATCC As2/R : TTGCTGGTTCACAACATGG	145
TG2.10	(TG)10 TT (TG)2	As3/F : ACCTTGTGATGCAGTCCTCA As3/R : TTCCAATTCCTTGCCACTTCC	191
TG2.5'	(TG)9	As4/F : CAGAAACAAAGGGGTCAGGA As4/R : CCCCAGCCACTGACTGATTA	150
TC2.37'	(TC)12 AT (TC)10 CC (TC)14	As5/F : GCCTGCTCTTTGGAGACTA As5/R : GAAAGGATGACATGCCCTA	191
TG1.20'	(CA)9	As6/F : GCCATGCTTCTGCTCTCTT As6/R : CATGCCTTAAATTACTGGGTAAC TG	177
ATG2.31	(TG)5	As7/F : GTTTGCCTCCAAGACTGCAT As7/R : AAATCCACCAGGATGAGCAA	112
ATG2.8 A	(CAT)10	As8/F : TGCATCAGTGCAGATGTTGA As8/R : AACAAATGCATCCAGAATTGC	193
ATG2.8 B	(TAAA)3 TAGA (TAAA)2	As9/F : GCAATTCTGGATGCATTTGTT As9/R : TTCTTTGGCACAGTGAGCAT	137
TC1.43	(TC)30(TG)8	As10/F : GGCAGAATATGCCTGACCAA As10/R : TGTAAAGGCACATACCTTGCAT	152
TG1.22'	(TG)9	As11/F : ATTACAGGGGATGTGCAGGA As11/R : GACCTCTGTGGGAGTGCTGT	197
TC2.19'	(G)11(GA)15 TT (GA)10	As12/F : AGGCTGAATGCCAAGTTTTG As12/R : GCATACCGGGTTTGAGACTT	160
TG1.37	(TG)7 TC (TG)3	As13/F : GGTGGCATTCTCCATCCTA As13/R : GCCCCTTCTGACTTGATCTG	157
ATG1.29	(GACA)6	As14/F : CAGATTTACAAGACTCAGAAGGATT As14/R : AGACTGCGGCACATGTCTTA	177
ATG1.8	(GAT)8	As15/F : CTCGCAACATTGTGAGGCTA As15/R : TAGAAATGGGCACACAAGCA	175
ATG2.9	(GAT)11	As16/F : TCCCCAGTGTGGAACCTTCT As16/R : TGTTCAGCAGGTCTCCTCT	172
TC1.5'	(GA)26	F : AACTTGGGCTGTGACACAAT R : CAAGTCACGAATCAGGCAGA	165

Pour la mise au point des amorces microsatellites, nous avons ensuite utilisé les techniques suivantes : (a) mise au point des conditions d'amplification PCR avec des amorces non fluorescentes avec contrôle sur gel d'agarose, et (b) test du polymorphisme de chaque marqueurs sur des individus de populations différentes à l'aide d'amorces fluorescentes et contrôle sur séquenceur afin de juger de la longueur des fragments amplifiés .

Les résultats d'amplification ont été extrêmement aléatoires que l'on utilise la première ou directement la seconde méthode. Nous avons réussi à amplifier les microsatellites sur seulement certains individus des mêmes populations (INA et BANDIA). Même au sein de ces populations, une partie individus réagissaient bien et dans ce cas fonctionnaient avec toutes les amorces, même lorsque l'on modifiait les conditions PCR. Les autres individus ne donnaient aucun résultat ou seulement une amplification non spécifique de nombreux fragments de tailles différentes. De nombreux dimères d'amorces ont été observés, ce qui prouvait qu'elles s'associaient préférentiellement entre elles plutôt qu'avec l'ADN cible.

Pour expliquer ces observations, plusieurs hypothèses ont été envisagées :

- a) Les amorces ont été choisies dans des zones difficiles à amplifier où les conditions PCR sont difficiles à mettre au point.
- b) Il existe des variations trop importantes de concentration en ADN des échantillons:
 - Problème de conservation des échantillons dans l'alcool,
 - Problème d'extraction de l'ADN de tiques,
 - Variabilité de taille des tiques.
- c) Il existe des inhibiteurs de la réaction PCR qui ne sont pas éliminés lors de l'extraction d'ADN (en particulier l'hémoglobine présente dans le sang des hôtes sur lesquels se gorgent les tiques).
- d) Les microsatellites définis ne sont pas des microsatellites d'*A. sonrai* mais de ses hôtes (du fait de l'extraction d'ADN à partir de tiques entières et non à partir de tissus de tiques).
- e) Les microsatellites définis sont spécifiques d'un groupe d'*A. sonrai* et non de l'espèce en tant que telle (la banque de gènes a été réalisée sur des tiques d'une même zone géographique qui pourraient être très différenciées par rapport à des tiques provenant d'autres zones géographiques du fait d'une faible dispersion de chaque population).

Nous avons alors testé de nombreuses techniques d'amplification (modification du mélange d'amplification, modification des conditions PCR -notamment de la température d'hybridation et du nombre de cycles d'amplification-, essai de différents kits d'amplification avec des enzymes de duplication plus efficaces, essai des PCR nichées...). Aucune n'a permis d'obtenir de meilleurs résultats. L'hypothèse d'un mauvais choix d'amorces nous est apparu peu probable car il ne pourrait s'avérer mauvais pour 17 amorces différentes. L'hypothèse d'une mauvaise sélection des marqueurs microsatellites (sélection de microsatellites d'hôtes) est invalidée d'une part par le fait que les tiques ayant servi à la définition de la banque provenaient d'un élevage de tiques qui n'avaient pas été gorgées depuis plusieurs mois, et d'autre part par la comparaison des séquences contenant les microsatellites avec celles déposées sur le site EMBL référençant les génomes de nombreux micromammifères et de l'homme. Enfin, nous avons vérifié que les différences d'amplification ne dépendaient pas de l'état de gorgement des tiques, ni d'autres caractères individuels tels que le stade, le sexe ou la taille des individus. En revanche, deux facteurs ont particulièrement retenu notre attention : d'une part l'état de conservation des échantillons et les méthodes d'extraction d'ADN, d'autre part la différenciation peut-être trop importante des tiques typées :

- Concernant les modes de conservation, les échantillons utilisés ont été placés dès leur récolte dans l'éthanol à 100% qui a été régulièrement rajouté au cours du temps. Cette technique de conservation est considérée comme l'une des meilleures (avec la congélation directe à -80°C) pour les tissus récoltés à des fins moléculaires. Cependant, certains auteurs rapportent des cas de dégradation de l'ADN pour des échantillons conservés en alcool, après quelques semaines seulement. Dans notre cas, des variations d'amplification étaient observées entre des individus tous conservés dans de l'alcool de la même provenance, ce qui invalide cette hypothèse. De plus, les mêmes résultats ont été obtenus sur tiques fraîches et sur tiques conservées en alcool.

- Concernant les méthodes d'extraction, les premiers individus testés ont été écrasés puis extraits à l'aide d'un kit d'extraction pour tissus Qiagen (DNeasy Tissue Extraction Kit). L'ADN de tiques (et plus généralement d'insectes) semble particulièrement difficile à extraire, ce qui a donné lieu à de nombreuses propositions de protocoles. Les méthodes jusqu'à présent utilisées produisent de l'ADN souvent partiellement dégradé, et en quantité insuffisante. De plus, le culot d'ADN déshydraté, obtenu par centrifugation dans de nombreuses techniques d'extraction, est particulièrement difficile à redissoudre, du fait de la présence de contaminants (polysaccharides et/ou protéines) parasites copurifiés avec l'ADN. Cependant, les méthodes proposées pour enlever les polysaccharides parasites ne semblent pas donner de meilleurs résultats. Enfin, d'autres facteurs semblent critiques à l'extraction d'ADN de tiques : la quantité de manipulations d'extraction qui favorise la coupure de l'ADN, la trop faible quantité de tampon de lyse par rapport à la quantité de tissus qui augmente la viscosité de l'ADN et diminue sa solubilisation, et enfin l'impossibilité d'enlever les débris tissulaires et exosquelettiques du tampon d'extraction qui empêche la resolubilisation de l'ADN et favorise la coupure de l'ADN. Aucune technique ne donne satisfaction sur tous les points et son efficacité dépend finalement de l'espèce considérée et du fragment d'ADN que l'on veut amplifier.

Considérant toutes ces informations, nous avons travaillé en collaboration avec le laboratoire d'Immunologie de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, expérimenté sur l'analyse moléculaire des tiques et de leurs pathogènes. Nos résultats ont donné lieu à une publication présentant une technique d'extraction fiable, rapide, compatible avec une étude populationnelle et répondant aux contraintes exposées plus haut (utilisation de l'azote liquide pour accéder à l'ADN des cellules puis d'un agitateur à bille pour broyer les tiques à l'état de poudre) (Halos et al., 2004). Les échantillons extraits à l'aide de cette méthode ont été retestés pour l'amplification des microsatellites et n'ont pas donné de meilleurs résultats que précédemment bien que l'ADN soit de meilleure qualité. Par contre, même avec cette technique, des variations de quantité d'ADN persistent (qui peuvent dépendre de la taille des tiques) mais n'influent pas sur la réussite de l'amplification puisque les échantillons qui répondent bien continuent de répondre lorsqu'on les dilue au 1/10^{ème} et au 1/100^{ème}. Enfin, il est apparu que quelle que soit la méthode d'extraction les échantillons supportent mal les congélations-décongelations successives, ce qui rend difficile les répétitions de manipulations.

Résultats de l'étude de la différenciation des tiques collectées

Plusieurs résultats et observations étaient en faveur de l'hypothèse de différenciation :

- 1). Les résultats génétiques avec les marqueurs microsatellites: L'amplification avait réussi seulement sur des individus des populations de Bandia (zone d'origine des tiques ayant servi à la banque de gènes) et d'Ina (14°30'N-16°01'W). Les microsatellites étaient parfois amplifiés chez les individus des autres localités proches de Bandia, telles que Keur Ngor (13°58'N-16°01'W), Dielmo (13°43'N-16°24'W) et ses alentours, mais jamais pour les localités plus éloignées (régions nord et est du Sénégal, Mauritanie). Cependant, même pour Ina et Bandia, tous les individus ne réagissaient pas et ces variations devaient encore être expliquées.
- 2). Les données sur l'écologie des *A. sonrai*: endophilie (vit dans un terrier et se gorge sur des rongeurs plutôt territoriaux) et mode de gorgement (gorgement de courte durée de quelques minutes à quelques heures et décrochement rapide de la tique).
- 3). Les ambiguïtés de la systématique de ce groupe d'Ornithodores mises en évidence dès les années 1950.

Afin de mettre en évidence une différenciation génétique suffisante pour empêcher l'amplification de marqueurs microsatellites d'un groupe à l'autre, il faut choisir un marqueur moléculaire conservé évoluant lentement. D'après les travaux de phylogénie réalisés sur les tiques, nous avons choisi l'ADN ribosomal 16S. Il présente l'avantage d'avoir plusieurs copies identiques dans le génome et est donc facilement amplifiable. Il présente un taux de substitution suffisamment élevé pour être informatif à l'échelle de l'espèce ou de la sous-espèce et suffisamment faible pour éviter les substitutions multiples gênant la compréhension des phylogénies. Enfin, il a été souvent utilisé pour des phylogénies de tiques dures, en association avec les ADNr 12S, 28S ou 18S et a permis récemment de démontrer qu'une tique pouvant être classée dans l'espèce *Ornithodoros porcinus* et non *Ornithodoros moubata* était capable de transmettre *Borrelia duttoni* ainsi qu'une nouvelle espèce de *Borrelia* en Tanzanie (Fukunaga et al., 2001; Mitani et al., 2004). *A. sonrai* étant phylogénétiquement proche de ces deux dernières espèces, nous avons utilisé les amorces ainsi que le protocole d'amplification décrits dans Fukunaga et al. (2001).

Au total, 21 individus provenant de 13 localités différentes au Sénégal et en Mauritanie ont été séquencés (tableau 14). Les séquences obtenues ont été vérifiées puis alignées à l'aide du logiciel SEAVIEW en choisissant *O. porcinus* comme groupe externe. La méthode des distances a été choisie pour obtenir une première phylogénie. Un arbre des plus proches voisins a été généré à partir de la matrice des distances à l'aide des applications NEIGHBOR et DNADIST du logiciel PHYLIP 3.5 (Figure 3). Les données ont été au préalable bootstrappées (1000 répliquions) à l'aide de l'application SEQBOOT de PHYLIP 3.5.

On observe distinctement deux groupes d'*A. sonrai* dont les séquences de 16S sont plus semblables entre elles : le groupe « Bandia, Ina, Ngor, Dielmo et ses environs », et le groupe « Choum, Moudjéria, Mbut, Sélibabi, Richard-Toll, Ganket et Keur Momar Sarr, Kanène Khar, Darou Mousti

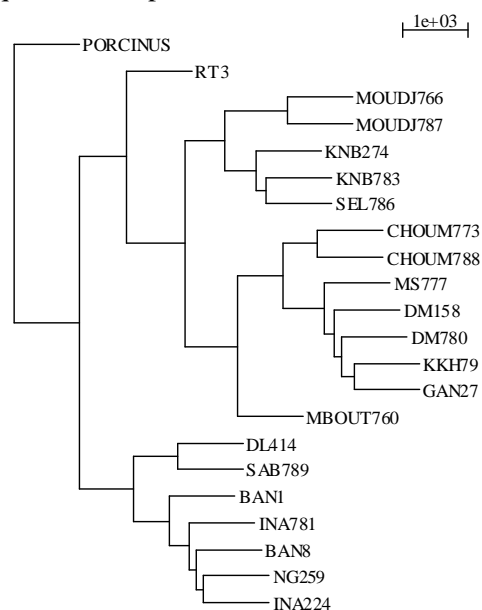
et Kéniéba ». Ces groupes, en particulier le deuxième, ne sont pas complètement homogènes et présentent différents haplotypes qu'il conviendra d'étudier plus attentivement pour voir s'ils se distribuent au hasard où s'ils suivent aussi des contraintes géographiques. Il pourrait y avoir au sein du deuxième groupe des sous-groupes comme le suggère la séparation nette de Richard-Toll et de Mbout.

Tableau 14 : Tiques choisies pour le séquençage de l'ADNr 16S

Pays	Coordonnées	Localité	Code	Terrier	Sexe*	Taille	Gorgement
Mauritanie							
	21°10'N-13°06'W	Choum	CHOUM773	22T29	NN	1	0
		Choum	CHOUM788p	22T29	NN	1	0
	17°59'N-12°14'W	Moudjéria	MOUDJ766	14T1	M	2	0
		Moudjéria	MOUDJ787p	14T9	F	3	0
	15°56'N-12°01'W	Mbout	MBOUT760	4T1	M	2	0
	15°01'N-12°04'W	Sélibabi	SEL786p	7T19	M	3	0
Sénégal							
	16°27'N-15°42'W	Richard-Toll	RT3	9T2	M	2	0
	15°58'N-15°57'W	Ganket	GAN27	1T4	M	3	0
	15°55'N-15°57'W	Keur Momar Sarr	MS777p	1T1	NN	1	0
	15°30'N-16°01'W	Kanène Khar	KKH79	6T1	F	3	0,5
	15°04'N-16°00'W	Darou Mousti	DM158	2T7 CH4	F	3	0
		Darou Mousti	DM780p	2T6ch12	NN	2	0
	14°30'N-16°01'W	Ina	INA224	3T1	F	3	0
		Ina	INA781p	2T1	F	3	0
	13°58'N-16°01'W	Keur Ngor	NG259	8T9	F	2	0
	13°43'N-16°24'W	Dielmo	DL414	T44 (SM)	F	3	1
	13°43'N-16°25'W	Sabouya	SAB789p	C12T42I	F	3	0
	14°37'N-17°01'W	Bandia	BAN1	T9	F	2	0
		Bandia	BAN8	T21	F	3	0
	14°05'N-12°03'W	Kéniéba	KNB274	1T1	F	3	0
		Kéniéba	KNB783p	1T3	F	2	0

* NN : nymphe ; M : mâle ; F : femelle

Plus d'individus doivent être séquencés afin de confirmer ces relations phylogénétiques. D'autre part, cinq sites du Mali doivent être ajoutés, dont notamment celui de Gao qui est la localité type *d'A. sonrai*. Enfin, d'autres marqueurs moléculaires sont en cours de mise au point (12S, 18S, cytochrome b) afin de pouvoir tester cette phylogénie à l'aide d'autres gènes.

Figure 3 : Arbre phylogénétique réalisé à partir de la matrice de distance (bootstrapping des données)

Analyse génétique des *Borrelia* collectées

Choix et mise au point des techniques

Comme pour le génotypage d'*A. sonrai*, il était au départ prévu d'utiliser une technique de génotypage à haut pouvoir de discrimination et d'analyser la variabilité des marqueurs choisis à différentes échelles. Toutefois, le génome des borrelies est petit (entre 900 et 950 Kbp) et majoritairement codant (93% de codant chez *B. burgdorferi*) (Fraser *et al.*, 1997). Il ne présente donc pas de marqueurs microsatellites et l'on suspecte que de nombreuses séquences aient été conservées au cours de l'évolution et soient donc peu variables.

Dans un premier temps, nous avons amplifié le gène de la flagelline afin de détecter les borrelies dans les tiques échantillonnées. Au Sénégal, sur 537 tiques testées dans 9 zones différentes, 185 ont été trouvées infectées, dans toutes les zones exceptée Ganket où peu de tiques ont pu être récoltées et donc testées (tableau 15).

Tableau 15 : Localités du Sénégal où les tiques ont été testées pour les *Borrelia*.

Localité	Tiques testées	Tiques infectées	Proportion
Richard-Toll	24	11	46%
Ganket/Momar Sarr	10	0	0%
Kanène Khar	89	12	13%
Darou Mousti	66	22	33%
Ina	71	5	7%
Keur Ngor	15	3	20%
Dielmo	206	118	57%
Bandia	10	1	10%
Kéniéba	46	13	28%

Au Mali et en Mauritanie, seul un petit nombre de tiques a pu être testé jusqu'à présent (tableau 16). Dans trois sites de ces deux pays, il a été mis en évidence une infection borrélienne chez *A. sonrai*.

Tableau 16 : Localités de Mauritanie et du Mali où les tiques ont été testées pour les *Borrelia*.

Localité	Tiques testées	Tiques infectées	Proportion
Mauritanie			
Sélibabi (Mbalou))	8	1	13%
Mbout (Soufa)	7	4	57%
Moudjeria (Nbeika)	9	0	0%
Atar (Oujeft)	1	0	0%
Choum (Gleibat Aouled)	2	0	0%
Mali			
Séféto (Diougounté)	14	2	14%
Gao	5	0	0%
Konna (Sama)	2	0	0%
Sofara (Molibana)	1	0	0%

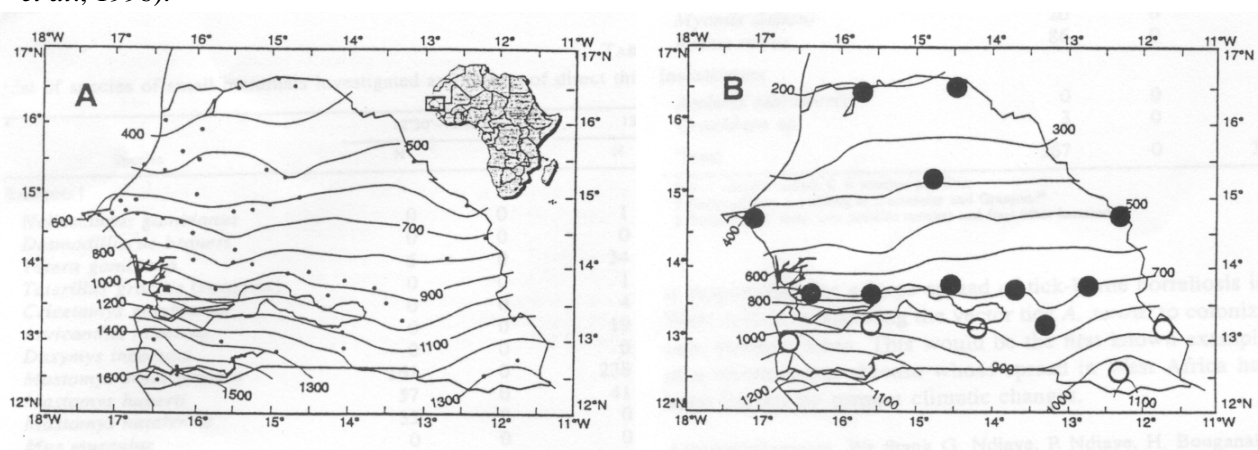
Nous avons séquencé quelques fragments de zones différentes mais aucune variabilité n'a été détectée. La mise en évidence d'une différenciation entre espèces ou entre souches de *Borrelia* permettrait de comparer leur répartition à la phylogéographie des tiques mise en évidence par l'étude de l'ADNr 16S. Pour la différenciation d'espèces, nous pourrions nous fonder sur la récente étude par SNP (Single nucleotide polymorphism) de l'ADNr 16S par Brahim *et al.* (2005). Concernant la différenciation de souches de *B. crocidurae* (qui semble plus probable dans notre cadre d'étude), cette technique ne sera peut-être pas suffisamment discriminante. Le « grand spacer 16S-23S » semble en revanche constituer une bonne cible d'amplification. Son séquençage, en cours chez *B. burgdorferi sensu lato*, permettrait de définir des amorces pour l'amplification d'une zone plus petite, variable, incluse dans ce spacer.

Analyse des facteurs climatiques et autres facteurs environnementaux associés à la répartition ancienne et actuelle de la borréliose à tiques

Situation du problème

Au Sénégal, où le plus grand nombre de données historiques sur la borréliose à tiques était disponible, il a été montré une progression vers le sud de l'aire d'endémie de la maladie qui a correspondu très étroitement au déplacement de l'isohyète 750 mm depuis 1970, date du début de la période actuelle de sécheresse en Afrique de l'Ouest (figure 4).

Figure 4 : **A :** Isohyètes 1947-1969 ; **B :** Isohyètes 1970-1990. Avant 1965, la localité la plus au sud connue d'*A. sonrai* était située à 14°28'N/16°59'W. Les cercles noirs montrent où *A. sonrai* a été collecté en 1990-1992, les cercles blancs montrent où la recherche de ce vecteur a été négative (Trape *et al.*, 1996).



préciser la répartition actuelle de la borréliose en Afrique de l'Ouest et centrale et de vérifier l'hypothèse d'une extension généralisée en zone soudanienne qui correspondrait au déplacement vers le sud de l'isohyète 750 mm depuis 1970.

Méthodes

Données climatiques

A partir de la base de données des relevés climatiques de l'Afrique de l'Ouest et centrale de l'IRD (UR Hydrosociétés, Montpellier), nous avons établi une carte au demi-degré carré de la pluviométrie moyenne des périodes 1947-1969 et 1970-1995. Parallèlement, nous avons entrepris l'acquisition systématique de données climatiques de la période 1996-2003 (pluviométrie, hygrométrie et températures quotidiennes) et rassemblé les cartes climatiques disponibles pour chaque pays étudié.

Données pédologiques

Des échantillons de sol ont été systématiquement prélevés dans chacune des stations des sites étudiés et analysés au laboratoire de chimie des sols du Centre IRD de Dakar.

Données sur la faune des terriers

La faune présente dans terriers examinés ou associée à ces terriers (arthropodes, reptiles, amphibiens et micromammifères) a été systématiquement collectée et déterminée (habituellement au niveau de l'ordre ou de la famille pour les arthropodes, du genre ou de l'espèce pour les reptiles, amphibiens et micromammifères).

Autres données environnementales

Outre les observations de terrain faites dans chaque site, nous avons systématiquement recherché les cartes de végétation, orohydrographiques, géomorphologiques, hydrogéologiques, agricoles et de population des pays étudiés.

Résultats

La figure 5 montre la pluviométrie annuelle moyenne de la période 1947-1969. La figure 6 montre la pluviométrie annuelle moyenne de la période 1970-1995 et regroupe l'ensemble des données anciennes et nouvelles sur la répartition d'*A. sonrai* en Afrique de l'Ouest et centrale (enquêtes de l'IRD depuis 1990 et données de la littérature). On observe que toutes les localités où la présence d'*A. sonrai* a été mise en évidence sont situées dans des régions où la pluviométrie annuelle moyenne est comprise entre moins de 50 mm et 750 mm. L'isohyète 750 mm est étroitement associée à la limite sud de la borréliose au Sénégal et au Mali. Dans ces deux pays et en Mauritanie, la majeure partie des régions où la pluviométrie est inférieure à 750 mm apparaît colonisée par *A. sonrai*. En revanche, cette tique semble rare ou absente dans les régions de pluviométrie similaire du Burkina-Faso, du Niger, du Tchad et du Cameroun. De même, *A. sonrai* semble rare ou absent dans les régions strictement sahariennes de l'est du Mali. D'une façon générale *A. sonrai* apparaît massivement présent au nord de l'isohyète 750 mm dans la moitié ouest de l'Afrique de l'Ouest et du Sahara. En revanche, il semble rare, localisé ou absent dans les régions à pluviométrie similaire de la moitié est de l'Afrique de l'Ouest et de l'Afrique centrale.

Pour expliquer cette répartition, aucun des paramètres pédologiques, de végétation, orohydrographiques, géomorphologiques, hydrogéologiques, agricoles ou de population examinés n'a fourni d'hypothèse plausible. De même, l'analyse de la faune associée aux terriers n'a pas permis non plus de proposer d'hypothèse susceptible d'expliquer la répartition observée.

Concernant les paramètres climatiques, à pluviométrie annuelle moyenne égale, il existe des différences d'hygrométrie et de fréquence des pluies hivernales entre les régions ouest et est de l'Afrique d'Ouest soudano-sahélienne et saharienne. Nous explorons actuellement cette hypothèse susceptible d'expliquer les différences de répartition d'*A. sonrai*.

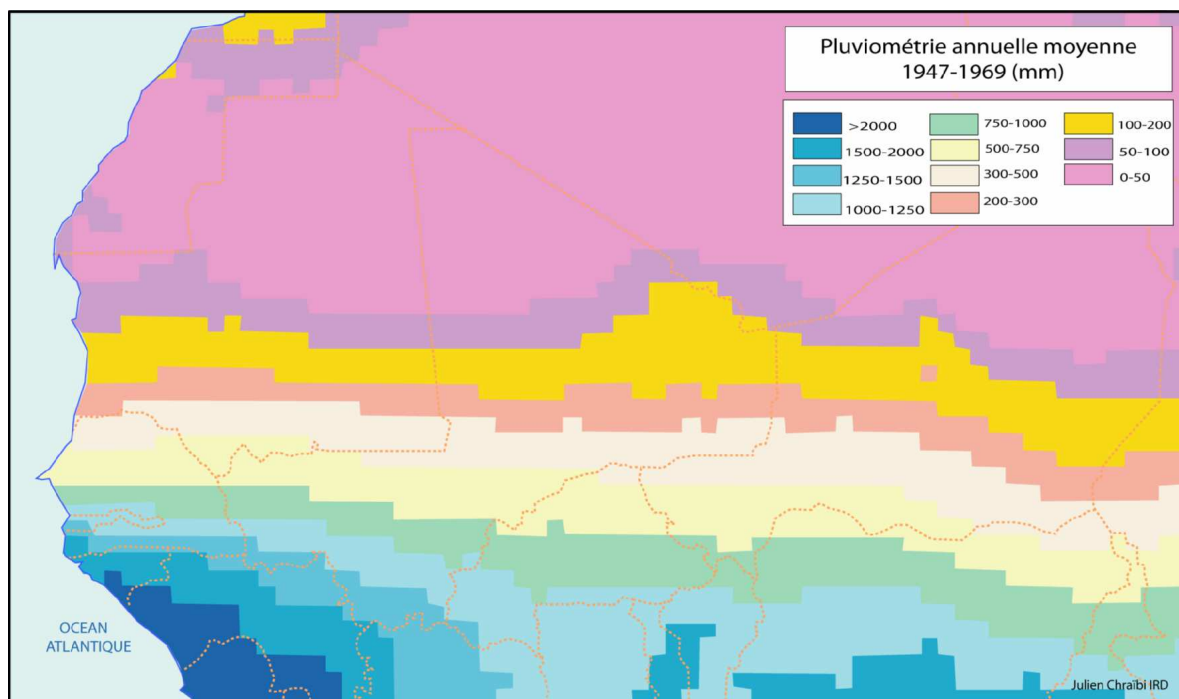


Figure 5. Pluviométrie annuelle moyenne en Afrique de l'Ouest, période 1947-1969

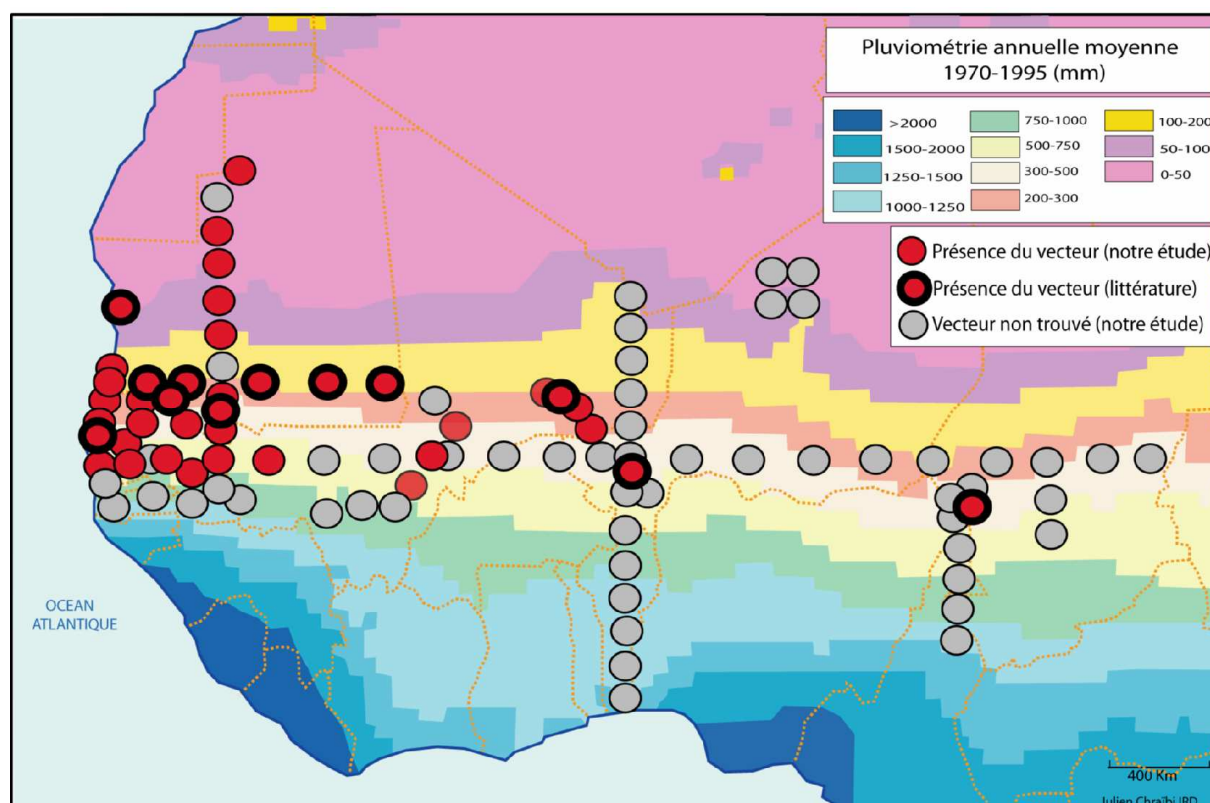


Figure 6. Répartition d'*Alectorobius sonrai* en Afrique de l'Ouest et isohyètes 1970-1995. En rouge, les localités où le vecteur a été signalé (cercle fin : nos enquêtes depuis 1990, cercle épais : données de la littérature), en gris les localités où la recherche du vecteur a été négative (nos enquêtes depuis 1990).

Conclusion

Les recherches sur la borréliose à tiques conduites dans le cadre du programme GICC 2 ont associées six équipes françaises et des équipes nationales de huit pays africains. Elles constituent la première étude à vaste échelle jamais réalisée sur cette maladie en Afrique occidentale et centrale. Par rapport aux objectifs initiaux du projet, les principaux résultats obtenus sont les suivants :

(1). Un volet très important de collecte de données de terrain sur la répartition du vecteur et de l'agent pathogène au Sénégal, en Mauritanie, au Mali, au Burkina-Faso, au Bénin, au Niger, au Cameroun et au Tchad était prévu. Ce volet a été entièrement réalisé selon les modalités proposées. Un total de 4919 terriers de rongeurs dans 198 stations de 70 sites d'études de ces huit pays a été explorés pour la présence du vecteur. Des séances de piégeage de micro-mammifères ont été organisées dans 27 sites de ces huit pays et ont permis la collecte de 1087 rongeurs et insectivores.

Tous les sites d'accès délicat (zones minées en Mauritanie, zones d'insécurité dans le nord du Mali, du Niger et de l'est du Tchad) ou difficile ont pu être atteint sans problème majeur. Surtout, 178 000 km ont été parcourus sans accident grave ni incident notable.

(2). Le protocole d'échantillonnage d'*Alectorobius sonrai* qui avait été défini pour le projet GICC2 s'est montré adapté, ce qui était loin d'être évident au départ.

D'une part, le choix d'une stratégie d'échantillonnage basée sur les seules coordonnées géographiques s'est montré pertinent. En retirant tout facteur subjectif dans le choix des sites, il a renforcé la signification des résultats. Echantillonner exactement au point GPS prédéfini a été généralement possible et définir comme site d'échantillonnage la zone située dans un rayon de 10 km autour de ce point a permis de résoudre, le cas échéant, les problèmes d'accessibilité en véhicule tout terrain dans les zones montagneuses ou dangereuses.

D'autre part, le nombre prédéfini de terriers à aspirer pour la recherche du vecteur avait été fixé à 30 par site, avec jusqu'à 30 terriers supplémentaires étudiés si les 30 premiers terriers se révélaient tous négatifs. La sensibilité de cette méthode s'est révélée suffisante, car 84 % (6/37) des sites potentiellement positifs des études en transect ont ainsi été détectés, sans que jamais deux sites consécutifs soient négatifs. Inversement, les 34 sites négatifs des études en transect dont le site suivant était également négatif ont constitué un ensemble continu, sans aucun site positif, depuis le delta central du Niger jusqu'au Tchad. Les enquêtes le long du fleuve Niger et celles au Sénégal pour déterminer la limite sud du vecteur ont également montré la bonne sensibilité de l'approche choisie.

(3). Les méthodes nouvelles de génétique moléculaire ont pour la première fois été appliquées à l'étude d'*Alectorobius sonrai* et de *Borrelia crociduræ*. Leur mise au point s'est révélée longue et délicate. Les premiers résultats montrent qu'une forte proportion de tiques est infectée par l'agent pathogène dans la plupart des sites étudiés et qu'il existe au sein du vecteur plusieurs populations génétiquement différenciées.

(4). Les grandes lignes de la répartition géographique de la borréliose apparaissent clairement à l'issue du projet. Le vecteur et l'agent pathogène sont massivement présents dans toute la moitié ouest de l'Afrique occidentale, mais ceci uniquement au nord de l'isohyète 750 mm (Sénégal, Mauritanie, Mali). La limite sud de la progression de la borréliose peut être tracée sur le terrain avec une grande précision car la prévalence de terriers colonisés y est immédiatement élevée. En zone saharienne, le vecteur et l'agent pathogène remontent dans les zones très arides du nord de la Mauritanie et il existe probablement une continuité territoriale avec les stations du sud marocain où la présence de *A. sonrai* a été rapportée dans les années 1950. L'hypothèse de base du projet – l'extension généralisée en zone soudanienne de la borréliose sous l'effet de la persistance de la sécheresse depuis 1970- apparaît ainsi confortée par les résultats de cette étude.

(5). En revanche, dans la moitié est de l'Afrique occidentale et en Afrique centrale (Burkina-Faso, Niger, Bénin, Cameroun, Tchad), le vecteur de la borréliose semble rare ou absent, ceci à la fois en zone soudanienne, en zone sahélienne et en zone saharienne. Ces résultats sont inattendus dans la

mesure où *A. sonrai* avait été autrefois signalé de Niamey et de Ndjaména. De plus, il semble exister au niveau du bassin du Niger une zone de transition où le vecteur se maintient au nord de l'isohyète 750 mm uniquement à proximité du lit majeur du fleuve Niger et ses principaux affluents. La répartition du vecteur au Sénégal, en Mauritanie et dans l'ouest du Mali est au contraire indépendante du réseau hydrographique.

(6). De nombreux paramètres climatiques et autres paramètres environnementaux -pédologie, végétation, orohydrographie, géomorphologie, hydrogéologie, agriculture, population, faune associée- ont été testés pour tenter d'expliquer la limite est de répartition du vecteur. La plus grande hygrométrie de saison sèche et la plus grande fréquence des pluies d'hiver qui sont observées au Sénégal, en Mauritanie et dans l'ouest du Mali sont actuellement les seuls facteurs identifiés susceptibles d'expliquer les différences de répartition d'*A. sonrai* au nord de l'isohyète 750 mm en Afrique occidentale et centrale. L'humidité de saison sèche associée au delta central du Niger pourrait expliquer le maintien localisé du vecteur dans la partie centrale de l'Afrique de l'Ouest au nord de l'isohyète 750 mm.

Nous proposons de poursuivre dans le cadre de GICC 3 l'étude de l'impact du changement climatique sur la borreliose à tiques selon les axes de recherche suivants : (a) délimitation précise sur le terrain dans l'est du Sénégal, au Mali et le long du bassin du Niger des limites sud et est de la répartition du vecteur, (b) recherche d'une continuité de la répartition de la borreliose entre la Mauritanie et le Maroc, (c) poursuite de la caractérisation génétique du vecteur et de l'agent pathogène, et (d) approfondissement de l'analyse des relations climat/environnement/borreliose.

REFERENCES

- Ba EH. Epidémiologie clinique de la Borreliose à tiques dans une zone rurale du Sénégal. Mémoire de fin d'études d'Ingénieur. Univ. Cheikh Anta Diop de Dakar, 2001, 58 p.
- Bergeret Ch., Raoult A. Notes sur les formes nerveuses de la fièvre récurrente. Fièvre récurrente à tiques en Afrique Occidentale Française. *Bull Med AOF* 1948, 5 :271-283.
- Billote N., Lagoda P.J.L., Risterucci A.M., Baurens F.C. Microsatellite-enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits* 1999; 54 (4): 277-288.
- Boiron H. Considérations sur la fièvre récurrente à tiques au Sénégal. L'importance du rat comme réservoir de virus. *Bull Soc Path Ex* 1949 ; 42 : 62-70.
- Brahim H, Pierre-Gros-Claude J, Postic D, Baranton G, Jambou R. Identifying Relapsing Fever Borrelia, Senegal. *Emerging Infectious Diseases* 2005;11:474-475.
- Charmot G, Rodhain F, Dupont B, Sansonetti P, Lapresle C. Meningo-encéphalite chez un rapatrié du Sénégal. Pensez à une borreliose. *Presse Med* 1986; 15 : 979.
- Diatta G. Etude Epidémiologique de la Borreliose dans deux régions du Sénégal. Mémoire de DEA de Biologie Animale. Univ. Cheikh Anta Diop de Dakar, 1992, 82 p.
- Diatta G, Trape JF, Legros F, Rogier C, Duplantier JM. A comparative study of three methods of detection of *Borrelia crociduræ* in wild rodents in Senegal. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1994 ; 88 : 423-424.
- Fukunaga M, Ushijima Y, Aoki Y, Talbert A. Detection of Borrelia duttonii, a Tick-Borne Relapsing Fever Agent in Central Tanzania, Within Ticks by Flagellin Gene-Based Nested Polymerase Chain Reaction. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 2001;1:331-338
- Fraser C, al. Genomic sequence of a Lyme disease spirochaete, *Borrelia burgdorferi*. *Nature* 1997;390:580-586.
- Godeluck B, Duplantier JM, Ba K, Trape JF. A longitudinal survey of *Borrelia crociduræ* prevalence in rodents and insectivores in Senegal. *Am J Trop Med Hyg* 1994 ; 50 : 165-168.
- Gonnet C. Complications méningées et oculaires de la fièvre récurrente africaine. *Med Trop* 1942 ; 2 : 895-902.
- Goubau PF. Relapsing fevers. A review. *Ann Soc Belge Med Trop* 1984 ; 64: 335-364 .
- Halos L, Jamal T, Vial L. Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Veter Research* 2004;5:1-18.
- Lecompte Y., Trape J.F. La fièvre récurrente à tiques d'Afrique de l'Ouest. *Ann Biol Clin* 2003, 61541-548.
- Mathis C, Durieux C, Advier M. Transmission naturelle et expérimentale à l'homme du spirochète infectant dans la nature, à Dakar, la tique: *Ornithodoros erraticus* var. *maroccanus*. *Ann Inst Pasteur* 1934 ; 52 : 166-178.
- Mathis C. La spirochétose récurrente à tiques au Sénégal. In: *L'œuvre des Pastoriens en Afrique Noire (Afrique Occidentale Française)*. Paris: Presses Universitaire de France, 1948.
- Mitani H, Talbert A, Fukunaga M. New World Relapsing Fever Borrelia Found in *Ornithodoros porcinius* Ticks in Central Tanzania. *Microb Immunol* 2004;48:501-505.
- Morel PC. Les tiques d'Afrique et du Bassin méditerranéen. Maisons-Alfort: IEMVT, 1965.
- Rodhain F. Borrelia et fièvres récurrentes: aspect épidémiologiques actuels. *Bull Inst Pasteur* 1976 ; 74 : 173-218.
- Trape J.F., Duplantier J.M., Bouganali H., Godeluck B., Legros F., Cornet J.P., Camicas J. Tick-borne borreliosis in West Africa. *Lancet* 1991; 337 : 473-475.
- Trape J.F., Godeluck B., Diatta G., Rogier C., Legros F., Albergel J., Pépin Y., Duplantier J.M. The spread of tick-borne borreliosis in West Africa and its relation to Saharan drought. *Am J Trop Med Hyg* 1996a, 54: 289-296.
- Trape J.F, Godeluck B, Diatta G, Rogier C, Legros F, Albergel J, Pépin Y., Duplantier J.M. Tick-borne borreliosis in West Africa: recent epidemiological studies. *Ann Acad Med Bialostocensis* 1996b ; 41 : 136 - 141.
- Trape J.F. Changements climatiques et maladies infectieuses : le cas du paludisme et de la borreliose à tiques. *Med Mal Infect* 1999, 29 : 296-300.

ETUDE PALUDISME

Introduction

Le paludisme est la première cause de morbidité en Afrique tropicale où il est responsable d'environ un tiers des motifs de consultation dans les formations sanitaires. Il constitue aussi la première cause de mortalité de l'enfant. L'incidence des décès attribuables au paludisme a triplé depuis les années 1990 en raison de l'émergence puis de la généralisation de niveaux élevés de résistance à la chloroquine, le principal médicament antipaludique disponible en Afrique. De 2 à 3 millions de morts sont occasionnés chaque année par le paludisme en Afrique tropicale et selon les régions de 20% à 40% des décès d'enfants de moins de 5 ans lui sont imputables [1-6].

Paradoxalement, le fort déficit pluviométrique qui se poursuit depuis le début des années 1970 en Afrique de l'Ouest a fortement réduit en zone sahélienne la répartition, l'abondance et le taux d'infection des anophèles vecteurs du paludisme sans pour autant être associé à une diminution significative du poids du paludisme pour la plupart des populations concernées. La perte d'efficacité des antipaludiques explique seulement une partie de ce phénomène. La perte d'immunité des populations nord-sahéliennes les rend plus vulnérables à l'infection et est susceptible d'occasionner des phénomènes épidémiques de grande ampleur et gravité, notamment en cas d'événement climatique extrême (pluies diluviennes). De plus, la multiplication récente des aménagements hydro-agricoles en zone sahélienne et dans les oasis du Sahara pour lutter contre les conséquences de la sécheresse crée des conditions favorables à l'introduction et au maintien permanent de populations d'anophèles vecteurs du paludisme, en premier lieu *Anopheles gambiae* et *An. arabiensis*.

Dans cette étude de l'impact du changement climatique sur le paludisme en Afrique de l'Ouest, conduite sous l'égide du programme Gestion et Impact du Changement Climatique (GICC) du Ministère français de l'Ecologie et du Développement Durable, notre objectif a été (1) de déterminer la limite nord actuelle en Mauritanie de la répartition des anophèles et notamment des trois espèces - *An. gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus* - qui constituent les vecteurs majeurs de cette endémie en Afrique de l'Ouest, et (2) de préciser les risques de pénétration et d'installation durable de ces vecteurs en Afrique du Nord.

Justification

La spécificité du paludisme en zone afrotropicale est reconnue depuis longtemps [7]. Dans les années 50, elle a motivé l'exclusion de l'Afrique tropicale du programme mondial d'éradication du paludisme entrepris par l'OMS. A travers l'histoire, elle avait eu auparavant d'importantes conséquences, en empêchant notamment toute implantation durable de populations exogènes, qu'elles soient originaires d'Europe, d'Afrique du Nord, du Moyen Orient ou d'Asie du Sud. Même après l'isolement de la quinine de l'écorce de quinquina en 1820, qui a permis la pénétration coloniale, l'Afrique tropicale est longtemps restée le "tombeau de l'homme blanc" du seul fait du paludisme, limitant ainsi l'immigration européenne et asiatique aux hautes terres du Sud et de l'Est du continent.

Le facteur qui explique la spécificité du paludisme afrotropical est bien connu: c'est la capacité vectorielle exceptionnelle de trois espèces anophéliennes présentes exclusivement dans cette partie du monde: *Anopheles gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus*. Elle repose sur la longue durée de vie, la forte anthropophilie et l'abondance de ces vecteurs, qui leur permettent d'occasionner plusieurs centaines de cas secondaires de paludisme à partir d'une seule personne infectée [8]. Le taux d'inoculation entomologique est habituellement de plusieurs dizaines ou centaines de piqûres infectantes par personne par an en Afrique tropicale, alors qu'il est presque toujours inférieur à une piqûre infectante par personne par an dans les autres parties du monde [9]. Lorsque *An. gambiae* a été

accidentellement introduit au Brésil en 1930, la plus importante épidémie de paludisme qu'ait connu le continent américain s'est immédiatement déclarée et elle n'a pris fin qu'avec l'élimination de ce vecteur dix années plus tard [10].

L'existence d'une forte transmission vectorielle du parasite et d'une incidence élevée de la maladie n'implique pas obligatoirement l'existence d'une mortalité palustre importante. Au Congo, au Kenya, dans certaines régions du Sénégal et probablement dans de nombreuses autres régions d'Afrique tropicale, la mortalité palustre a pu être ramenée à des niveaux très faibles dans les années 70 et au début des années 80, ceci sans que soit modifié le niveau de la transmission ni l'incidence des cas cliniques [11-15]. L'incidence des décès palustres était alors jusqu'à 30 fois plus faible que par le passé dans ces mêmes régions [11]. Cette diminution considérable de la mortalité palustre a été chaque fois attribuable à une utilisation intensive de chloroquine par la population, en particulier sous forme d'automédication lors de la survenue d'un syndrome fébrile.

L'émergence de la résistance à la chloroquine, d'abord en Afrique de l'Est dans les années 70, puis progressivement dans l'ensemble de l'Afrique tropicale dans les années 80 et le début des années 90, a eu un impact dramatique sur l'évolution de la mortalité palustre [3-5,15]. Toutes les données disponibles suggèrent au minimum un doublement de la mortalité palustre. Dans des populations qui ont été particulièrement bien étudiées, il a été mis en évidence jusqu'à 600% d'augmentation de la mortalité palustre dans les années qui ont suivi l'émergence de la résistance à la chloroquine [3,4]. Bien que l'urgence de redéfinir les modalités de la lutte antipaludique et tout particulièrement de changer de stratégie thérapeutique soit largement reconnue [16], peu d'effets concrets sont jusqu'à présent observés en Afrique [17].

La complexité des relations entre la densité vectorielle, le taux d'inoculation entomologique, la prévalence de l'infection, l'incidence de la maladie et le risque de décès repose sur la particularité essentielle qui distingue le paludisme de toutes les autres maladies: une immunité vraie n'est jamais acquise par l'homme, mais celui-ci peut souvent acquérir une forme particulière de protection: la prémunition. Dans le contexte des fortes transmissions rencontrées en Afrique tropicale, cette particularité exceptionnelle explique les paradoxes les plus remarquables du paludisme: cette affection tue massivement, mais 4 personnes sur 5 n'ont rien à en redouter de grave, sans qu'il soit actuellement possible d'expliquer pourquoi dans le cas de 3 d'entre-elles [18,19]; cette affection "n'épargne" que très relativement les personnes naturellement protégées contre les complications graves de l'infection, car elles seront malades du paludisme en moyenne 40 ou 60 fois dans leur vie, avec chaque fois des symptômes initiaux de la maladie identiques à ceux des personnes qui mourront du paludisme dans les heures ou les jours suivants [19,20]; enfin, il s'agit d'une affection dont le poids en santé publique n'est pas fonction de l'importance de sa transmission, car elle est potentiellement aussi grave -ou aussi bénigne- pour une personne donnée que celle-ci soit piquée par un anophèle infecté une seule fois chaque année ou mille fois par an [19,21,22].

Pour ces raisons, c'est dans le contexte de paludisme instable des régions présahariennes que l'évolution climatique actuelle et les événements extrêmes sont le plus susceptibles d'avoir un impact majeur en termes de santé publique. De plus, les aménagements hydroagricoles des oasis du Sahara pourraient favoriser la progression vers le nord des trois espèces anophéliennes à forte capacité vectorielle et permettre à terme leur installation durable en Afrique du Nord.

Matériel et méthodes

Plan d'échantillonnage

Trois régions de Mauritanie ont été retenues pour des prospections systématiques à la recherche de gîtes larvaires potentiels d'anophèles :

- le massif de l'Adrar, dans le nord de la Mauritanie, entre 19°30'N-21°N et 12°W-13°30'W, où il existe de nombreuses oasis et guelta permanentes.

- les environs d'Akjoujt (19°45'N, 14°23'W), ville située sur l'axe principal de circulation vers le nord de la Mauritanie où la présence d'un oued important avec des aménagements hydro-agricoles récents (digue de retenue) constitue un risque de colonisation par des anophèles.
- le massif du Tagant, dans le centre du pays, entre 17°N-19°N et 11°W-12°30'W, où il existe de nombreuses oasis, mares (tamourts) et guelta permanentes et où un programme de création de petits barrages financé par l'Union Européenne est en cours de réalisation.

Collecte des anophèles et analyses de laboratoire

Prospection larvaires

Les anophèles ont été recherchés par inspection systématique des gîtes larvaires potentiels et par collecte à la louche des larves et nymphes observées. Celles-ci ont ensuite été gardées en élevage jusqu'à leur éclosion. En cas de décès avant l'éclosion, les larves ont été fixées dans l'alcool à 95°C puis montées sur lame pour détermination au laboratoire.

Captures au piège lumineux

Des captures nocturnes des imagos au piège lumineux ont été effectuées en utilisant des pièges CDC. Les pièges étaient installés le soir vers 19 heures et récupérés le lendemain matin à partir de 7 heures.

Captures sur appât humain

Des séances de capture de nuit sur homme ont été réalisées entre 19 heures et 2 heures du matin. Les appâts-collecteurs étaient constitués par l'équipe de recherche du projet.

Synthèse des données récentes disponibles sur les anophèles et la transmission du paludisme en Mauritanie

Très peu de publications et rapports existent sur le paludisme en Mauritanie. Toutefois plusieurs enquêtes ont été réalisées ces dernières années par le Centre National d'Hygiène de Nouakchott et une enquête a été effectuée par l'IRD en 1996.

Nous avons systématiquement recherché toutes les données disponibles sur la faune anophélienne et la transmission du paludisme en Mauritanie.

Résultats

Echantillonnage

Massif de l'Adrar

Un total de 13 stations a été échantillonné en octobre 2004 dans huit des principales oasis de l'Adrar. Dans sept des huit oasis *Anopheles dhtali* a été collecté à l'état larvaire, dans les pièges lumineux ou lors de captures de nuit sur homme. Aucun spécimen du complexe *An. gambiae* n'a été observé. Le détail des stations de collecte est indiqué sur le tableau 17. Il est à noter que la pluviométrie a été particulièrement faible en 2004 dans l'Adrar (moins de 50 mm), contrairement à 2003 où des pluies diluviennes ont été responsables d'inondations catastrophiques dans tout le nord de la Mauritanie et ont détruit un quartier entier d'Ain el Taya, l'un des sites que nous avons étudié en 2004. De larges zones du nord de la Mauritanie étaient encore inondées début décembre 2003 lors de notre enquête sur la borréliose.

Tableau 17 : Résultat des collectes d'Anophèles dans l'Adrar

Station	Coordonnées	Date	Espèces d'anophèles
Ain el Taya (lit d'oued)	20°16'N x 13°13'W	06/10/04	<i>An. dhtali</i>
Ain el Taya (bassins)	20°17'N x 13°13'W	07/10/04	néant
Hamdoun (guelta)	20°19'N x 13°09'W	06/10/04	<i>An. dhtali</i>
Hamdoun (lit d'oued)	20°19'N x 13°09'W	06/10/04	<i>An. dhtali</i>
Jala (bassins)	20°18'N x 13°11'W	07/10/04	néant
Ted (source)	20°43'N x 13°00'W	07/10/04	<i>An. dthali</i>
Ted (lit d'oued)	20°43'N x 13°00'W	07/10/04	<i>An. dthali</i>
Ted (bassins)	20°43'N x 13°00'W	07/10/04	<i>An. dthali</i>
Maireth (guelta)	20°14'N x 13°00'W	08/10/04	<i>An. dhtali</i>
Maireth (bassins)	20°16'N x 13°00'W	08/10/04	néant
Terjit (source)	20°15'N x 13°05'W	09/10/04	<i>An. dthali</i>
Swiyia (lit d'oued)	20°16'N x 13°07'W	09/10/04	néant
Azougui (guelta)	20°37'N x 13°07'W	10/10/04	néant

Environs d'Akjoujt

Il n'a pas été observé d'anophèles dans la mare de la digue de l'oued d'Akjoujt.

Massif du Tagant

Un total de cinq stations a été étudié dans le Tagant. *Anopheles pharoensis* a été collecté en forte densité en captures de nuit sur homme et à l'état larvaire dans l'oasis de Nbeika. *An. arabiensis* a été collecté à l'état larvaire à Nbeika et *Anopheles An. dthali* a été collecté à l'état larvaire à Matmata et à Moudjeria (Tableau 18).

An. pharoensis était particulièrement abondant et agressif lors de notre enquête à Nbeika (82 femelles collectées en 5 heures de capture en première partie de nuit).

Tableau 18 : Résultat des collectes d'Anophèles dans le Tagant

Station	Coordonnées	Date	Espèces d'anophèles
Nord Nbeika (mare)	18°00'N x 12°16'W	14/10/04	<i>An. pharoensis</i>
Nord Nbeika (palmeraie)	18°00'N x 12°16'W	14/10/04	<i>An. pharoensis</i>
Sud Nbeika (mare)	17°57'N x 12°14'W	16/10/04	<i>An. arabiensis</i>
Matmata (guelta)	17°52'N x 12°05'W	15/10/04	<i>An. dthali</i>
Moudjeria (source)	17°53'N x 12°19'W	14/10/04	<i>An. dthali</i>

Synthèse des données disponibles

Les données de notre enquête et celle des études précédentes (23-29) montrent la présence des espèces suivantes en Mauritanie : *An. gambiae s.s.*, *An. arabiensis*, *An. melas*, *An. funestus*, *An. rufipes*, *An. dthali*, *An. rhodesiensis*, *An. pharoensis*, *An. pretoriensis*, *An. squamosus*, *An. demeilloni* et *An. coustani*.

La répartition connue de la plupart de ces espèces est limitée au sud de la Mauritanie, depuis le delta du fleuve Sénégal jusqu'à la région du Hodh dans l'est du pays. C'est notamment le cas de deux vecteurs majeurs du paludisme *An. gambiae s.s.* et *An. funestus*.

An. arabiensis est retrouvé dans l'ensemble du sud de la Mauritanie et remonte dans le Tagant jusqu'à Rachid (18°47'N, 11°41'W) qui constitue la localité la plus au nord où cette espèce a été signalée. Les autres localités où *An. arabiensis* a été collecté dans le Tagant sont Nbeika et El Mechra. Dans ces deux localités, *An. arabiensis* a parfois été trouvé en abondance en saison des pluies.

An. dthali, que nous avons trouvé en abondance dans l'Adrar, a plusieurs fois été suspecté d'être un vecteur un paludisme dans d'autres pays d'Afrique (29, 30) mais sa faible anthropophilie rend hautement improbable qu'il soit capable d'être à l'origine d'épidémies (26).

An. pharoensis, qui était abondant sur homme lors de notre enquête à Nbeika, est considéré comme un vecteur occasionnel du paludisme quand il est en forte densité. Comme *An. dthali*, il n'est pas susceptible d'occasionner une épidémie de paludisme, même en cas de pullulation.

Conclusion

Cette enquête entomologique sur le paludisme en Mauritanie conduite dans le cadre du programme GICC 2 avait pour objectif principal de rechercher l'éventuelle introduction de vecteurs majeurs du paludisme (*An. gambiae*, *An. arabiensis* et *An. funestus*) dans des oasis du nord de la Mauritanie, ceci à la faveur des retenues d'eau et autres aménagements hydroagricoles qui sont en très forte extension actuellement dans ce pays.

Notre enquête a montré l'abondance des anophèles dans la plupart des sites étudiés de l'Adrar et du Tagant, dont trois espèces qui sont des vecteurs possibles du paludisme : *An. dthali* (Adrar et Tagant), *An. pharoensis* (Tagant) et *An. arabiensis* (Tagant) Les deux premières sont de très mauvais vecteurs et ne sont pas susceptibles de permettre l'épidémisation de la maladie. *An. arabiensis* est un très bon vecteur du paludisme. Il constitue un risque élevé d'épidémie dans le Tagant les années de forte pluviométrie.

L'absence de *An. arabiensis* lors de notre enquête dans l'Adrar suggère que cette espèce ne s'est pas encore adaptée aux nombreux gîtes potentiels, dont beaucoup sont récents, que nous avons observés dans cette région de Mauritanie. Toutefois, seule une petite partie des nombreuses oasis de l'Adrar a pu être étudiée lors de notre enquête. En particulier, nous n'avons pas conduit d'enquête dans l'oasis de Wokchida où une forte épidémie de cas de fièvre présumés d'origine palustre est survenue en mars 2004 (31), après les pluies exceptionnelles de l'automne 2003 responsables de nombreuses inondations dans l'Adrar qui ont persisté de nombreux mois.

Nous proposons de poursuivre dans le cadre de GICC 3 l'étude de l'impact du changement climatique sur le paludisme en zone sahélo-saharienne selon les axes de recherche suivants : (a) prolonger les sondages actuels par une prospection systématique des gîtes anophéliens potentiels du nord de la

Mauritanie afin d'établir si les retenues d'eau et aménagements hydroagricoles -en très forte extension dans les oasis du Sahara- peuvent être responsables d'épidémies lors d'évènements climatiques extrêmes et permettre aux grands vecteurs ouest-africains du paludisme de remonter vers les régions méditerranéennes, (b) entreprendre une analyse globale des relations climat/paludisme en zone de transmission saisonnière ou épidémique d'Afrique de l'Ouest à partir des données déjà disponibles au Sénégal et d'enquêtes complémentaires en Mauritanie.

REFERENCES

1. World Health Organization - World malaria situation in 1993. La situation du paludisme dans le monde en 1993. *Weekly Epidemic Rec* 1996; 17-22.
2. Snow RW, Craig MH, Newton C, Steketee RW. The public health burden of *Plasmodium falciparum* malaria in Africa : deriving the numbers. Working paper N° 11, Disease Control Priorities Project. Bethesda, Maryland : Fogarty International Center, National Institutes of Health. 2003, 75pp.
3. Trape JF, Pison G, Preziosi MP, Enel C, Desgrées du Loû A, Delaunay V, Samb B., Lagarde E, Molez JF, Simondon F. Impact of chloroquine resistance on malaria mortality. *C R Acad Sci Paris, Ser III*, 1998, 321:689-697.
4. Trape JF. The public health impact of chloroquine resistance in Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2001, 64 :12-17.
5. Snow RW, Trape JF, Marsh K. The past, present and future of childhood malaria mortality in Africa. *Trends parasitol*. 2001 : 593-597.
6. Trape JF, Pison G, Spiegel A, Enel C, Rogier C. Combating malaria in Africa. *Trends Parasitol* 2002, 18:224-230.
7. Boyd MF. *Malariology*. W.B. Saunders Company, Philadelphia & London, 1949.
8. Macdonald G. The epidemiology and control of malaria. *Oxford University Press, London* 1957.
9. Mouchet J, Carnevale P, Coosemans M, Fontenille D, Ravaonjanahary C, Richard A, Robert V. Typologie du paludisme en Afrique. *Cahiers Santé* 1993, 3:220-238.
10. Soper FL, Wilson DB. *Anopheles gambiae* in Brazil. The Rockefeller Foundation, New York, 1943.
11. Trape JF, Quinet MC, Nzingoula S, Senga P, Tchichelle F, Carme B, Candito D, Mayanda H, Zoulani A - Malaria and urbanization in Central Africa: the example of Brazzaville. V. Pernicious attacks and mortality. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1987, 81 (Suppl 2): 34-42.
12. Trape JF, Zoulani A, Quinet MC. Assessment of the incidence and prevalence of clinical malaria in semi-immune children exposed to intense and perennial transmission. *Am. J. Epid.* 1987, 126:193-201.
13. Spencer HC, Kaseje DCO, Mosley WH. Impact on mortality and fertility of a community-based malaria control programme in Saradidi, Kenya. *Ann Trop Med Parasitol* 1987 (Suppl. 1):36-45.
14. Pison G, Trape JF, Lefebvre M, Enel C. Rapid decline in child mortality in a rural area of Senegal. *Int. J. Epid.* 1993, 22:72-80.
15. Carme B. Low malaria mortality among children and high rates of *Plasmodium falciparum* transmission: a Congolese reality in the 1980s. *Parasitol Today* 1996; 12: 206-207.
16. White NJ, Nosten F, Looareesuwan S, Watkins WM, Marsh K, Snow RW. Averting a malaria disaster. *Lancet* 1999, 353 : 1965-1967.
17. Attaran A, Barnes KI, Curtis C, d'Alessandro U, Fanello CI, Galinski MR, Kokwaro G, Looareesuwan S, Makanga M, Mutabingwa TK, Talisuna A, Trape JF, Watkins WM. WHO, the Global Fund, and medical malpractice in malaria treatment. *Lancet* 2004, 363 :237-240.
18. Allison AC. Protection afforded by sickle cell trait against subtertian malaria affection. *Brit Med J* 1954; 1: 290-294.
19. Trape JF, Rogier C. Combating malaria morbidity and mortality by reducing transmission. *Parasitol Today* 1996, 12: 236-240.
20. Rogier C, Ly AB, Tall. A., Cisse B. & Trape JF. *Plasmodium falciparum* clinical malaria in Dielmo, a holoendemic area in Senegal: no influence of aquired immunity on the initial symptomatology and severity of malaria attacks. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1999, 60:410-420.
21. Snow RW, Marsh K. Will reducing *Plasmodium falciparum* transmission alter malaria mortality among African children ? *Parasitol Today* 1995, 11: 188-190.
22. Alles HK, Mendis KN, Carter R. Malaria mortality rates in South Asia and in Africa: implications for malaria control. *Parasitol Today* 1998; 14: 369-375.
23. Sautet J, Ranque J, Vuillet F, Vuillet J. Quelques notes parasitologiques sur le paludisme et l'anophélisme en Mauritanie. *Med. Trop* 1948; 8: 32-39.
24. Hamon J, Ouedraogo CS, Diawara Djime. Compte-rendu de la prospection entomologique faite en République Islamique de Mauritanie du 4 octobre au 9 novembre 1963. Rapport OCCGE, n°390/ENT/1963.
25. Maffi M. Contribution to the knowledge of the Anopheline fauna of Mauritania. Rapport OMS, WHO/Mal/434, mars 1964
26. Hamon J, Maffi M, Grenier P, Ouedraogo CS, Djime D. Note sur les moustiques de la République Islamique de Mauritanie (1ère partie). *Bull. Soc. Entomol. France*, 1964; 69: 233-253.
27. Molez JF, Faye O. Transect Sud-Nord Fleuve (moyenne vallée) oasis (plateau du Tagant). Vecteurs du paludisme et incidence palustre. Rapport ORSTOM n° 21/97-MZ/DK, 1997.
28. Ould Abdallahi M. Paludisme en Mauritanie: étude entomologique de la transmission, de l'incidence et des risques épidémiques sur la rive droite du fleuve Sénégal et dans les oasis du Tagant. Rapport de DEA, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, 2000.
29. Sacca G. Contributo alla conoscenza della Myzomya del Sud Marocchino. *Riv. Parassit.* 1960 ; 21 : 319-322.
30. Rishikesh N. Rôle d'*Anopheles dthali* Patton comme vecteur secondaire du paludisme dans la région septentrionale de la République de Somalie. Rapport OMS, WHO/Mal/308, 1961.
31. DRPSS Adrar. Epidémie de fièvre au niveau de la localité de Wokchida commune de Maaden dans la Moughataa d'Aoujeft / Wilaya de l'Adrar. Rapport, 26 mars 2004.

VALORISATION

Rapports

Diatta G, Vial L, Mané Y, Duplantier JM, Awono-Ambene P, Mallaye P., Ba K, Camicas JL, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* au Tchad et au Cameroun. Rapport préliminaire. Dakar, IRD, avril 2003.

Diatta G, Vial L, Mané Y, Duplantier JM, Awono-Ambene P, Mallaye P., Ba K, Camicas JL, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* au Tchad et au Cameroun. Dakar, IRD, décembre 2004.

Diatta G, Vial L, Duplantier JM, Ba H, Ould Mohamed SA, Ba K, Kane M, Mané Y, Camicas JL, Lo B, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* en Mauritanie. Rapport préliminaire. Dakar, IRD, janvier 2004.

Diatta G, Vial L, Duplantier JM, Ba H, Ould Mohamed SA, Ba K, Kane M, Mané Y, Camicas JL, Lo B, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* en Mauritanie. Dakar, IRD, avril 2005.

Diatta G, Vial L, Mané Y, Duplantier JM, Granjon L, Nomao A, Zoungrana B, Adjényia A, Ba K, Atteynine SA, Aboumahamad IA, Nahum A, Ruffine R, Dabo A., Camicas JL, Akogbeto M, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* au Mali, Burkina Faso, Niger et Bénin. Rapport préliminaire. Dakar, IRD, avril 2004.

Diatta G, Vial L, Mané Y, Duplantier JM, Granjon L, Nomao A, Zoungrana B, Adjényia A, Ba K, Atteynine SA, Aboumahamad IA, Nahum A, Ruffine R, Dabo A., Camicas JL, Akogbeto M, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* au Mali, Burkina Faso, Niger et Bénin. Dakar, IRD, avril 2005.

Diatta G, Vial L, Niang O, Bouganali C, Trape JF. Enquête sur la borréliose à tiques à *Borrelia crocidurae* au Sénégal. Dakar, IRD, mars 2005.

Vial L, Durand P, Diatta G, Trape JF, Renaud F. Etude génétique d'*Alectorobius sonrai* et de *Borrelia crocidurae* au Sénégal et en Mauritanie. Dakar, IRD, avril 2005.

Communications

Vial L, Diatta G, Ba EL, Bouganali H, Trape JF. Emerging tick-borne relapsing fever in Sudanian part of Senegal : identification of host and environmental factors influencing the epidemiology of the disease. IX European Multicolloquium of Parasitology, Valencia, 18-23 juillet 2004.

Publications parues

Halos L, Jamal T, Vial L, et al. Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Veterinary Research* 2004;5:1-18.

Thèses

Diatta G. Etude de la répartition géographique de la borréliose à tiques en Afrique occidentale et centrale. Thèse de Doctorat de 3ème cycle de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar (soutenance prévue en novembre 2005).

Vial L. Thèse de Doctorat de l'Université de Montpellier (soutenance prévue fin 2005).

Autre valorisations prévues

Outre plusieurs articles en cours de rédaction qui seront prochainement soumis pour publication et un atlas climatique de l'Afrique de l'Ouest en cours de réalisation, il est à signaler que les nombreuses collectes ou observations zoologiques réalisées pendant les missions de terrain ainsi que le grand nombre de photographies animales effectuées à cette occasion contribuent de façon importante à la réalisation de trois ouvrages destinés à un large public (guides de terrain avec atlas de répartition) à paraître aux éditions de l'IRD sur les serpents, les autres reptiles et les rongeurs de l'Afrique de l'Ouest soudano-sahélienne et saharienne.

Disponibilité des données

La plupart des données collectées sur la borréliose ont été l'objet de rapports détaillés. Un rapport détaillé est également prévu sur celles concernant le paludisme. Les collections zoologiques de micro-mammifères, reptiles et amphibiens sont organisées en banque de données. L'établissement d'une banque de données est également prévue pour l'ensemble des arthropodes collectés.

Résultats à valoriser dans le site internet GICC

Les nombreuses données nouvelles sur la distribution de la borréliose à tiques en relation avec l'évolution climatique, notamment la limite sud de progression du vecteur étroitement associé à l'isohyète 750 mm, constituent le principal résultat à valoriser. Valider les nouvelles hypothèses concernant la limite est de la répartition du vecteur nécessitera environ deux nouvelles années de recherche de terrain.