Bull. Org. mond. Santé
Bull. Wld Hlth Org. } 1974, **51**, 145-153

Une méthode d'évaluation des densités microfilariennes d'*Onchocerca volvulus* Leuckart, 1893 chez des onchocerquiens

Répartition des densités microfilariennes suivant les sites et niveaux de prélèvement des biopsies cutanées; variations des densités microfilariennes au cours des 24 heures *

J. J. PICQ [1] & J. P. JARDEL [2]

Chez 50 sujets africains parasités par Onchocerca volvulus, *un certain nombre d'études ont été menées, destinées à mettre en évidence des variations dans les densités microfilariennes à différents niveaux et en différents sites du revêtement cutané. Pour chaque site, les variations au cours des différentes heures de la journée ont également été recherchées.*

Pour ces études, on s'est appuyé sur une technique de biopsies cutanées quantitatives, simple et opérationnelle. Elles ont montré l'absence de différences significatives des densités microfilariennes dans des biopsies effectuées symétriquement à droite et à gauche au niveau de la ceinture pelvienne, mais par contre l'existence de différences dans les densités microfilariennes à différents niveaux de prélèvement (mollet, ceinture pelvienne et omoplate), ainsi que l'absence de cycle dans les densités microfilariennes au cours des 24 heures. Chez un malade parasité par trois espèces de filaires (O. volvulus, Wuchereria bancrofti *et* Dipetalonema perstans), *on a pu mettre en évidence les différences qui existent entre un phénomène périodique cyclique et des variations non systématisées.*

Onchocerca volvulus à l'état adulte comme à l'état larvaire est un parasite du tissu sous-cutané de l'homme. De fait, la présence des microfilaires chez les sujets parasités est aisément mise en évidence par la pratique d'une minuscule biopsie cutanée exsangue ou « skin snip ».

Les auteurs, qui ont étudié le problème de l'évaluation des charges microfilariennes chez des sujets parasités par *O. volvulus*, ont conclu à la possibilité d'une étude quantitative de ces densités microfilariennes et surtout à l'intérêt de telles méthodes appliquées aux études pathogéniques, épidémiologiques ou thérapeutiques de l'onchocercose humaine (1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14).

Les études décrites ici sont la suite logique d'un travail précédent portant sur le choix d'une technique de biopsie cutanée quantitative ou « skin snip » quantitatif (12), méthode simple conçue pour être opérationnelle.

L'ensemble de ces expérimentations a été effectué il y a deux ans. A l'heure actuelle, l'expérience des auteurs porte sur quelques milliers de « skin snips » quantitatifs (snip Q) réalisés tant sur le terrain qu'au laboratoire.

BUT DE L'EXPÉRIMENTATION

Le travail actuel avait pour but d'étudier les éventuelles variations des densités microfilariennes en différents points ou sites du revêtement cutané ainsi qu'au cours de la journée et des 24 heures.

Ces expérimentations complètent l'étude critique statistique de la technique des « skin snips » quantitatifs (12); elles permettent de préciser les points de prélèvement les plus intéressants et d'étudier l'existence ou non d'un cycle nycthéméral.

* Travail réalisé en partie avec l'aide financière de l'OMS. Avec la collaboration technique de MM. Napon Seydou et Yameogo Narcisse, infirmiers microscopistes.

[1] Médecin Chef, Section Parasitologie, Centre Muraz, Organisation de Coordination et de Coopération pour la Lutte contre les Grandes Endémies (OCCGE), Bobo-Dioulasso, Haute-Volta.

[2] Statisticien, Assistant à l'Ecole nationale de Santé publique, Rennes, France.

MÉTHODES

Origine des sujets onchocerquiens

Les onchocerquiens soumis aux investigations sont des sujets africains venus en consultation à la Section Parasitologie du Centre Muraz à Bobo-Dioulasso. Tous vivent dans les vallées des Voltas, de la Bougouriba, du Kou, de la Leraba, de la Comoé, c'est dire qu'ils sont originaires des zones de savanes de Haute-Volta comprises entre le 10e et le 12e degré de latitude N.

Au total 50 sujets ont participé aux expérimentations, soit 15 pour le protocole N° 1 et 35 pour le protocole N° 2. Il s'agit de sujets des deux sexes âgés de 14 à 62 ans et infectés à des degrés divers.

La technique des « skin snips » quantitatifs

Les trois caractéristiques essentielles de cette technique, décrite en détail ailleurs (12), sont les suivantes:

— Les biopsies cutanées sont faites à l'aide d'une pince emporte-pièce ophtalmologique calibrée (diamètre de coupe de 3 mm).

— Les fragments cutanés sont recouverts d'une goutte d'eau distillée.

— La numération des microfilaires issues des fragments est faite au bout de 30 minutes sous faible grossissement du microscope.

Protocoles expérimentaux

Trois protocoles ont été adoptés et seront décrits successivement.

Protocole N° 1. Le premier protocole, réalisé durant le mois de janvier 1971, a été appliqué à 15 sujets; ces malades ont été hospitalisés 24 heures par groupes de deux et dans les intervalles des prélèvements ils conservaient leur liberté de mouvements.

Chez chacun de ces 15 sujets, 4 skin snips ont été pratiqués: deux snips au niveau de la ceinture pelvienne, 1 à droite et 1 à gauche, dans les quadrants supéro-externes des régions fessières et un peu au-dessous des crêtes iliaques, puis un snip au niveau de l'omoplate à l'insertion du deltoïde, enfin un snip en plein milieu du mollet.

Les 4 prélèvements furent répétés à 3, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21 et 24 heures.

Pour chaque site, chacun des prélèvements a été effectué à 1 cm du précédent.

Protocole N° 2. Devant certains résultats du protocole N° 1 et étant donné que la ceinture pelvienne représentait le site où la concentration microfilarienne était généralement la plus forte, un deuxième protocole a été élaboré pour tenter de déceler, à l'aide d'un effectif plus important, des variations des densités microfilariennes au cours de la journée entre 8 heures et 18 heures, variations qui avaient été entrevues par certains auteurs (6, Lartigue [1]).

Ce protocole a été appliqué en février et mars 1971 à 35 sujets de sexe et d'âges différents et présentant diverses charges microfilariennes. Ces sujets ont été soumis à 2 skin snips prélevés au niveau de la ceinture pelvienne à droite et à gauche, un peu au-dessous des crêtes iliaques. Les biopsies ont été faites à 8, 10, 12, 14, 16 et 18 heures. Les sujets se sont présentés à l'heure dite pour leurs prélèvements.

Protocole N° 3. Le protocole N° 3 concerne un malade polyparasité (observation N° 9 du protocole N° 1) infecté par 3 filaires, à savoir: *O. volvulus*, *Wuchereria bancrofti* et *Dipetalonema perstans*. Chez ce malade, 4 skin snips quantitatifs ont été pratiqués à la ceinture pelvienne à droite et à gauche, à l'omoplate droite et au mollet droit.

Quatre gouttes de sang ont été également prélevées aux doigts. Ces gouttes calibrées et colorées au Giemsa ont permis une étude quantitative des microfilarémies à *W. bancrofti* et à *D. perstans* (4).

Les biopsies cutanées et les gouttes épaisses ont été pratiquées au cours du nycthémère à 3, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 21 et 24 heures.

Dans les trois expérimentations (protocoles N°s 1, 2 et 3), les biopsies et les numérations ont été faites par deux infirmiers microscopistes rompus à cette technique. Le rôle du médecin s'est limité au contrôle

RÉSULTATS

Protocole N° 1

Présentation. L'ensemble des résultats est présenté sous forme chiffrée (tableau 1) et sous forme de graphique (fig. 1).

L'objet de l'analyse était, d'une part, de comparer les densités microfilariennes en chaque point ou site de prélèvement et, d'autre part, de rechercher l'existence éventuelle d'une évolution cyclique de la densité microfilarienne au cours de 24 heures.

Comparaison des sites de prélèvement. La densité est très variable d'un sujet à l'autre. On peut cependant, dans un premier temps, additionner toutes les

[1] Lartigue, J. J. (1965) *Variations du nombre de microfilaires d'*Onchocerca volvulus *contenues dans des biopsies cutanées pratiquées à différentes heures de la journée.* Document non publié WHO/ONCHO/66.49.

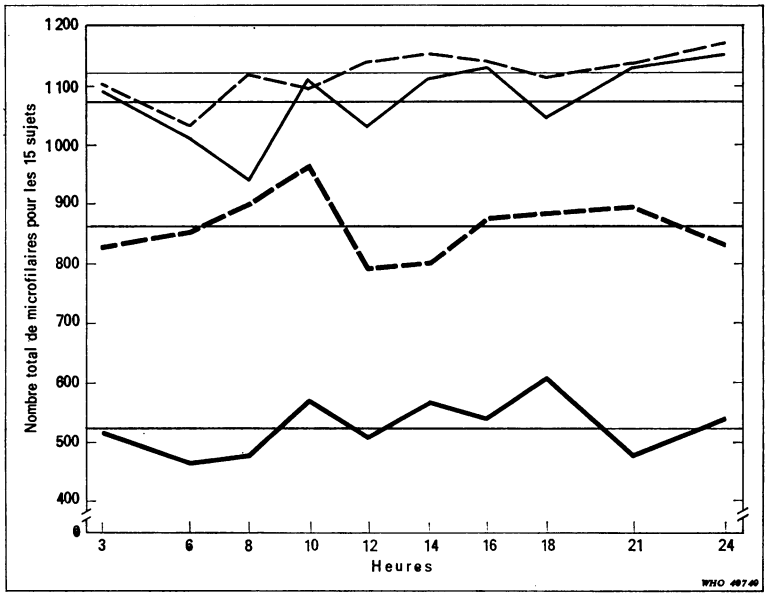

Fig. 1. Répartition du nombre total de microfilaires prélevées sur 15 sujets selon l'heure et la localisation du prélèvement.

— — — Ceinture pelvienne à gauche
——— Ceinture pelvienne à droite
▬ ▬ ▬ Mollet
▬▬▬ Omoplate

microfilaires sorties en un point donné et à une heure donnée. Dans le tableau 1 comme sur la figure 1, on remarque la nette prédominance de la localisation pelvienne. On cherche à confirmer cette impression en comparant entre elles les mesures individuelles selon le site et l'heure de prélèvement, sans tenir compte de ce dernier facteur.

Etant donné la forte variabilité d'un individu à l'autre, on préfère un test de rang (test de Wilcoxon pour les différences couplées) qui n'exige pas d'hypothèse sur la forme de la distribution.

a) Comparaison entre ceinture pelvienne droite et gauche:

Sur les 150 couples de mesures individuelles, on obtient 146 différences non nulles.

Après classement et calcul de la somme des rangs des différences négatives (T− = 5826), on compare ce résultat à l'espérance mathématique de T− dans l'hypothèse où le nombre de microfilaires serait indépendant de la localisation.

Soit E (T−) = 5365,5
et Epsilon (ϵ) = 0,90, non significatif.

On ne peut pas mettre en évidence de différence entre les localisations droite et gauche de la ceinture pelvienne.

b) Comparaison omoplate–mollet:

Sur les 150 couples de mesures, on obtient 149 différences non nulles; on trouve:

T+ = 2335,5
E (T+) = 5587,5
ϵ = 6,16 très hautement significatif.

Le snip pratiqué au mollet donne des résultats significativement plus élevés qu'à l'omoplate chez les mêmes sujets.

c) Comparaison ceinture pelvienne droite-mollet:

Sur les 150 couples de mesures, on obtient ici encore 149 différences non nulles. E (T−) [1] est donc le même que dans le paragraphe *b*) ci-dessus. On trouve:

[1] E (T+) et E (T−) sont évidemment identiques et on choisit la somme des rangs des différences positives ou négatives pour des raisons de facilité de calcul.

Tableau 1. Nombre de microfilaires par snip prélevé sur 15 sujets

Sujets	3 heures				6 heures				8 heures				10 heures				12 heures			
	G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M
1	116	141	51	39	68	60	67	21	119	64	18	70	139	85	56	112	131	169	35	57
2	17	6	2	16	11	2	2	16	14	25	0	5	11	15	0	10	11	7	1	16
3	47	59	40	30	55	7	42	12	178	153	41	97	141	129	67	83	183	101	63	27
4	188	197	116	187	217	218	95	193	137	143	88	121	146	141	102	148	175	132	122	178
5	17	21	38	26	9	12	27	50	28	2	46	104	30	8	70	99	26	23	91	80
6	172	190	43	222	176	189	57	231	159	68	61	182	164	167	82	206	144	120	43	179
7	28	22	1	23	13	9	2	16	21	29	3	36	19	21	2	28	17	33	3	29
8	50	42	22	41	40	43	20	52	24	27	21	26	33	49	22	48	24	41	26	34
9	83	31	4	2	57	70	3	5	76	41	12	13	56	54	14	13	62	34	9	17
10	194	197	127	159	149	155	84	139	187	193	146	127	181	211	105	151	167	156	65	91
11	87	91	12	48	103	132	11	77	121	131	12	103	109	148	13	47	97	102	13	58
12	66	53	42	8	52	39	21	3	19	16	18	2	28	31	28	7	40	30	27	3
13	11	19	13	16	14	24	31	18	9	7	5	9	19	12	2	7	14	31	6	16
14	24	26	3	7	63	49	2	21	23	37	2	5	21	45	3	4	47	59	2	3
15	2	3	1	4	1	4	1	7	5	1	1	1	2	1	0	7	3	0	0	5
Ensemble	1 102	1 098	515	828	1 032	1 013	465	861	1 120	937	474	901	1 099	1 117	566	970	1 141	1 030	506	793

[a] D,G = ceinture pelvienne à droite et à gauche; O = omoplate; M = mollet.

T— = 3398

et $\epsilon = 4{,}15$ très hautement significatif.

d) Conclusion:

On peut affirmer avec un risque d'erreur très faible (inférieur à 1 pour 1000) que la localisation la plus « rentable », c'est-à-dire celle où existent les densités microfilariennes généralement les plus fortes, est la ceinture pelvienne (à droite ou à gauche indifféremment), suivie du mollet, l'omoplate venant en dernière position.

On remarque d'ailleurs que les snips à l'omoplate ont été négatifs 6 fois sur 150, soit 4% de résultats faussement négatifs. Mais il existe des situations individuelles particulières (voir discussion, protocole N° 1).

Recherche d'un cycle nycthéméral

a) Observation:

La forme des courbes de la figure 1 ne peut évoquer que très vaguement l'existence d'un cycle sur le total des mesures selon l'heure et la localisation.

Pour préciser cette notion de cycle, on a déterminé la médiane de chaque série quotidienne individuelle pour les localisations ceinture pelvienne gauche et mollet (en éliminant les sujets trop peu infectés). Les valeurs trouvées à chaque heure ont été ensuite exprimées en pourcentage de la médiane de la série considérée. Les résultats sont présentés dans les figures 2 et 3. Les points se répartissent de part et d'autre de la ligne médiane (100%), sans qu'apparaisse un groupement qui pourrait évoquer un cycle.

b) Test:

On a cherché à vérifier l'hypothèse d'absence de cycle par la mesure de différences quadratiques moyennes successives, sur les totaux horaires pour chaque localisation.

On suppose que la somme totale des microfilaires dans les snips prélevés sur les 15 sujets à un point donné est distribuée au hasard selon une loi normale, quelle que soit l'heure du prélèvement.

Dans ces conditions, le rapport $\eta = \dfrac{\Sigma(x_{i+1}-x_i)^2}{\Sigma(x_i-\bar{x})^2}$

onchocerquiens, selon l'heure et la localisation du prélèvement [a]

14 heures				16 heures				18 heures				21 heures				24 heures				Sujets
G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M	G	D	O	M	
152	183	64	69	150	156	50	76	147	126	96	92	162	147	51	52	133	114	59	47	1
10	10	2	8	28	1	2	10	8	23	3	4	38	20	2	7	19	1	3	19	2
119	70	47	79	105	150	31	86	82	102	64	40	54	60	28	70	96	92	43	3	3
142	133	92	98	134	95	82	88	184	193	128	140	147	165	107	186	162	157	113	173	4
19	14	54	73	22	19	125	44	27	5	36	63	10	11	34	40	14	42	48	29	5
172	174	91	166	183	164	37	217	202	193	48	219	214	198	39	221	185	191	40	228	6
12	16	5	17	9	33	4	48	7	18	1	40	12	54	3	13	9	12	1	27	7
49	31	40	26	44	33	28	27	32	21	11	23	40	40	14	53	68	51	21	48	8
74	33	16	8	91	72	23	5	44	47	22	7	73	54	17	2	84	100	21	7	9
218	223	109	157	195	183	92	180	192	180	148	186	193	178	133	157	179	183	137	168	10
112	138	11	53	101	112	17	68	78	34	13	47	108	47	10	53	100	98	9	44	11
35	31	19	3	33	44	31	2	42	36	22	2	21	18	20	6	73	44	20	3	12
13	19	13	16	15	36	8	6	13	27	6	7	15	22	9	11	13	26	9	13	13
29	36	1	14	27	27	1	14	53	37	4	8	51	46	2	13	33	35	4	16	14
4	3	1	12	3	1	0	5	6	3	1	6	2	5	0	7	3	3	1	6	15
1 155	1 114	565	799	1 140	1 126	531	876	1 117	1 045	603	884	1 140	1 135	469	891	1 171	1 149	529	831	Ensemble

rapport entre la somme des carrés des différences entre observations successives et la somme des carrés des écarts à la moyenne, se trouve, au risque 5%, compris entre deux limites qui, pour 10 mesures, sont 1,062 et 2,938. Si η sort de cet intervalle à gauche, il existe une variabilité lente non aléatoire. Si η sort de cet intervalle à droite, il existe une variation cyclique de courte durée.

Le test a été fait pour les quatre localisations, avec les résultats suivants:

Ceinture pelvienne gauche:
$\eta = 1{,}285$, non significatif

Ceinture pelvienne droite:
$\eta = 1{,}817$, non significatif

Mollet:
$\eta = 1{,}897$, non significatif

Omoplate:
$\eta = 2{,}404$, non significatif

c) Conclusion:

L'expérience décrite ici ne permet pas d'admettre l'hypothèse de l'existence d'un cycle nycthéméral de la densité des microfilaires.

Protocole N° 2

Présentation. Le but de l'analyse a été de rechercher une éventuelle variation des densités microfilariennes en fonction de l'heure de la journée. On s'est appuyé pour ce faire sur le couple de mesures que représentent deux snips Q prélevés l'un à droite, l'autre à gauche au niveau de la ceinture pelvienne qui est le site de prélèvement le plus « rentable » (voir ci-dessus). De plus, l'effectif de 35 sujets est relativement important.

Recherche de l'heure. On se trouve en présence d'un plan factoriel d'ordre deux. On recherche l'effet du facteur « période de la journée », en éliminant l'effet du facteur « individu ». Toutefois, deux conditions doivent être réalisées:

— normalité de la distribution des mesures chez

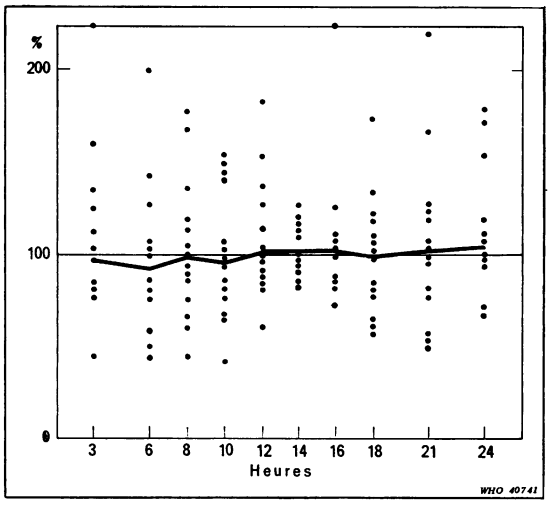

Fig. 2. Répartition des observations individuelles (14 mesures) : densités microfilariennes en pourcentages de la médiane de chaque série (ceinture pelvienne à gauche).

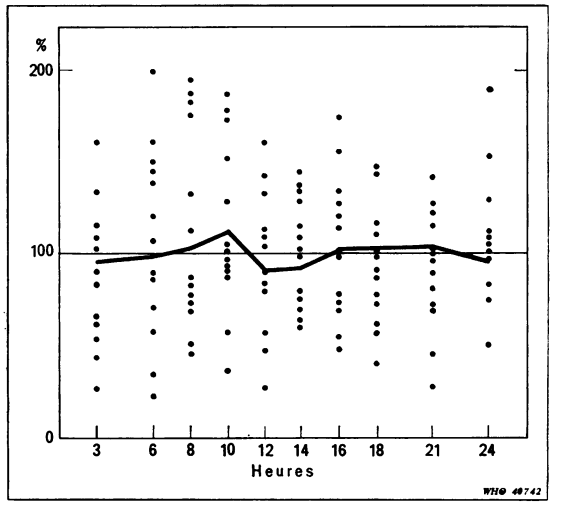

Fig. 3. Répartition des observations individuelles (13 mesures) : densités microfilariennes en pourcentages de la médiane de chaque série (mollet).

un même individu. On admettra cette condition réalisée, car il est peu probable que la distribution s'écarte notablement d'une distribution normale;

— égalité des variances des diverses distributions de mesures. Cette condition n'est pas réalisée si on s'intéresse à tous les individus, du fait des inégalités dans la charge microfilarienne; les variances s'échelonnent pour les doubles snips de 1 à 6000.

On a donc été amené à considérer 5 groupes, au sein desquels les variances estimées sur les échantillons de 6 mesures ne diffèrent pas significativement en pratique; ces groupes sont échelonnés comme suit:

1.	groupe de variance comprise entre	1 et 4 :	5 individus	(tableau 2)
2.	» » » » »	14 et 49 :	7 »	(tableau 3)
3.	» » » » »	50 et 250 :	6 »	(tableau 4)
4.	» » » » »	400 et 1 300 :	9 »	(tableau 5)
5.	» » » supérieure à	1 400 :	8 »	(tableau 6)
		Soit au total	35 individus.	

L'analyse des cinq plans factoriels ainsi constitués conduit, dans chaque cas, à l'absence de signification de la différence observée entre les heures de la journée. On est donc amené à conclure, au vu de l'expérience présentée, qu'il n'est pas possible d'admettre une liaison entre la charge microfilarienne mise en évidence par des doubles snips et l'heure de la journée.

Protocole N° 3

Ce protocole intéresse un seul sujet, mais parasité à la fois par *O. volvulus*, *W. bancrofti* et *D. perstans*. Les résultats d'ensemble sont représentés sur la figure 4.

On peut remarquer que les variations extrêmes des densités microfilariennes se font dans un rapport de:

1 à 99 pour *W. bancrofti*
1 à 2,1 pour *D. perstans*
1 à 1,7 pour *O. volvulus*

Il faut noter aussi l'aspect non systématisé des courbes de *O. volvulus* et de *D. perstans* et au contraire l'aspect systématisé des variations de la microfilarémie pour *W. bancrofti*.

DISCUSSION

Les protocoles N°s 1 et 2 ont été élaborés dans un esprit pratique et opérationnel; ils sont le plus

Tableau 2. Groupe des sujets présentant une variance comprise entre 1 et 4

N° des sujets	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h
25	3	4	4	2	4	3
22	6	5	2	3	3	3
4	7	5	2	4	3	5
23	7	3	5	7	8	4
29	5	9	3	7	6	7

Tableau 3. Groupe des sujets présentant une variance comprise entre 14 et 49

N° des sujets	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h
27	12	3	6	9	3	3
34	5	14	5	4	5	3
24	11	10	16	6	6	4
32	9	12	10	11	12	23
10	9	4	18	12	17	9
8	20	17	14	7	6	6
31	1	4	5	4	20	8

Tableau 4. Groupe des sujets présentant une variance comprise entre 50 et 250

N° des sujets	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h
26	8	24	17	23	29	17
17	30	26	16	11	17	31
6	41	41	27	23	20	17
28	32	64	34	30	52	38
15	84	79	58	104	93	90
3	62	44	59	33	20	47

Tableau 5. Groupe des sujets présentant une variance comprise entre 400 et 1300

N° des sujets	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h
2	98	63	74	37	85	66
16	69	73	144	56	98	70
35	303	293	275	342	318	310
7	74	62	110	116	76	116
12	75	69	28	21	20	25
21	30	96	19	27	41	35
9	66	63	132	106	96	118
11	120	114	97	40	101	75
5	35	100	88	77	132	126

Tableau 6. Groupe des sujets présentant une variance supérieure à 1400

N° des sujets	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h
1	90	189	135	85	115	112
13	140	152	71	69	137	146
33	321	306	332	301	318	418
19	88	147	162	168	162	227
14	286	324	219	240	278	357
30	186	291	115	237	273	181
18	356	475	367	308	371	276
20	132	156	189	283	327	268

simple possible. En particulier, malgré la grande facilité d'emploi de la pince emporte-pièce et le fait que les biopsies répétées sont remarquablement bien acceptées par les malades, on a évité les biopsies multiples et étagées, en se bornant à 3 ou 4 sites. Les temps de prélèvements trop rapprochés ont également été évités.

Tous les onchocerquiens venant de zones d'endémie de savane, il n'y a pas lieu de faire de distinction entre souches de savane et souches de forêt (5).

Protocole N° 1

Dans les limites de la technique de biopsie quantitative proposée et des tests d'analyse utilisés, les résultats ne prêtent guère à discussion.

Il faut relever toutefois, en ce qui concerne le rendement des différents sites, qu'il existe des situations individuelles. C'est ainsi que, régulièrement,

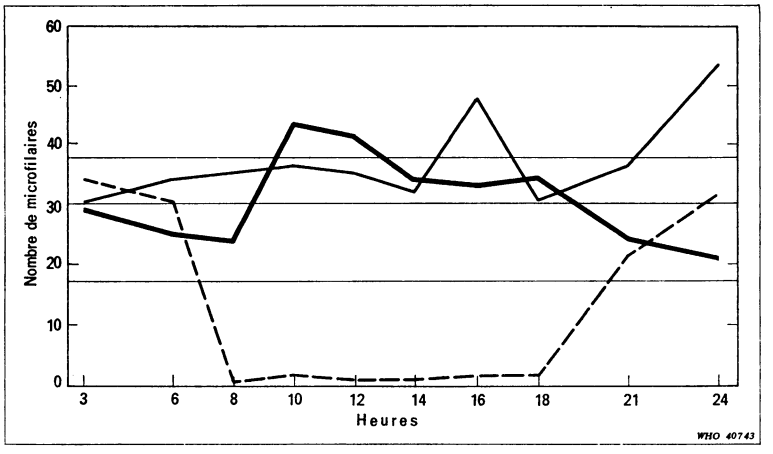

Fig. 4. Variations des densités microfilariennes en 24 heures chez un même sujet polyparasité.

D. perstans
W. bancrofti
O. volvulus

le sujet 5 a des résultats plus faibles à la ceinture pelvienne qu'aux autres localisations, le sujet 6 a des densités microfilariennes supérieures au niveau du mollet, le sujet 12 présente des densités à l'omoplate qui sont supérieures à celles du mollet (tableau 1).

Protocole N° 2

Dans ce protocole, l'effectif relativement important de 35 sujets a permis de tenir compte des variances des diverses distributions de mesure et d'obtenir 5 groupes au sein desquels les variances ne diffèrent pas significativement. Ceci a rendu possible l'analyse par plan factoriel, test particulièrement puissant. De plus, il a été procédé à une couple de mesures à chaque heure pour chaque individu.

L'analyse de variance montre que dans aucun cas les différences entre périodes n'atteignent le seuil de signification statistique; par contre, les différences entre individus sont significatives dans tous les groupes d'individus excepté un (tableau 3).

Cependant, les biopsies ont été limitées aux heures diurnes entre 8 heures et 18 heures pour les raisons suivantes: d'une part, l'activité des simulies vectrices d'*O. volvulus* est diurne et il aurait pu exister un rapport entre les heures d'activités maximales de *Simulium damnosum* en zone de savane (déplacements, piqûres, repas sanguin) et les variations des densités microfilariennes au niveau du revêtement cutané; d'autre part, pour des raisons pratiques, les prélèvements sont généralement réalisés de jour aussi bien sur le terrain lors d'enquêtes épidémiologiques, qu'au laboratoire lors d'études pathogéniques ou chimiothérapiques.

Protocole N° 3

L'étude des variations des densités microfilariennes de 3 filaires différentes parasitant un même sujet a permis de bien saisir et de bien visualiser (fig. 4) les différences qui existent entre de véritables variations cycliques périodiques, celles de la microfilaire de *W. bancrofti*, et de simples fluctuations qui sont probablement liées à la fois aux limites de fidélité des méthodes quantitatives et à la répartition des microfilaires au hasard dans les tissus, tissu sanguin pour *D. perstans*, tissu sous-épidermique pour *O. volvulus*.

CONCLUSION

Chez des sujets africains parasités par *Onchocerca volvulus* et originaires des foyers d'endémie onchocerquienne des savanes voltaïques, des études réalisées à l'aide d'une technique de biopsies cutanées quantitatives, simple et opérationnelle, ont montré qu'il existe des différences dans les densités microfilariennes suivant les sites et les niveaux du revêtement cutané (omoplate, ceinture pelvienne, mollet). L'ordre des densités décroissantes est chez la majorité

des sujets: ceinture pelvienne, mollet et omoplate. On n'a pu déceler par contre de différence statistiquement significative sur des séries de biopsies droite et gauche réalisées au niveau de la ceinture pelvienne.

Il n'a pas été possible non plus de mettre en évidence l'existence d'un véritable cycle ou même de fluctuations importantes des densités microfilariennes, ni au cours des heures diurnes, ni au cours des 24 heures.

Ces constatations permettent le choix des heures et des sites de biopsies, en fonction des recherches que l'on se propose, recherches chimiothérapiques ou épidémiologiques, suite logique du travail présenté ici.

SUMMARY

A METHOD FOR EVALUATING THE DENSITIES OF MICROFILARIAE OF *ONCHOCERCA VOLVULUS* LEUCKART, 1893 IN PATIENTS

DISTRIBUTION OF MICROFILARIAL DENSITIES ACCORDING TO THE SITE AND LEVEL OF SKIN BIOPSIES; VARIATION OF MICROFILARIAL DENSITIES DURING A 24-HOUR PERIOD

Variations in the density of microfilariae of *Onchocerca volvulus* depending on the site and the body level of the skin biopsies were investigated in 50 male and female African subjects from 14 to 62 years old, who all originated from the onchocerciasis endemic areas in the savannah of Upper Volta and were infected to different degrees. The variations in microfilarial density in each site at different times during the 24 hours of a day were also studied. A simple and practical quantitative skin biopsy technique was used. The first study showed no significant differences in microfilarial densities in skin biopsies taken symmetrically from the right and left sides of the body at the level of the pelvic girdle, but there were differences depending on the level of the biopsy (calf, pelvic girdle, and scapular regions); there was no 24-hour cycle of variation in these microfilarial densities. The second investigation confirmed the absence of significant periodic fluctuations in microfilarial densities during the diurnal hours when the *Simulium* vectors were active. The third investigation was carried out on a single patient who was infected with three species of filarial parasite (*O. volvulus*, *Wuchereria bancrofti*, and *Dipetalonema perstans*); no systematic variations in microfilarial densities were discovered with *O. volvulus* and *D. perstans*, but with microfilariae of *W. bancrofti* there was a cyclic periodicity.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BUCK, A. A. ET AL. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, **18**: 217-230 (1969).
2. BUCK, A. A. ET AL. *Bull. Org. mond. Santé*, **45**: 353-369 (1971).
3. BUDDEN, F. H. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **57**: 64-70 (1963).
4. BRENGUES, J. ET AL. *Ann. Parasit. hum. comp.*, **44**: 625-640 (1969).
5. DUKE, B. O. L. *Bull. Org. mond. Santé*, **27**: 629-632 (1962).
6. DUKE, B. O. ET AL. *Ann. trop. Med. Parasit.*, **61**: 206-219 (1967).
7. DUKE, B. O. L. *Bull. Org. mond. Santé*, **39**: 137-146 (1968).
8. KERSHAW, W. E. ET AL. *Brit. med. J.*, **2**: 724-729 (1954).
9. LAGRAULET, J. & BARD, J. *Bull. Soc. Path. exot.*, **62**: 601-605 (1969).
10. COMITÉ OMS D'EXPERTS DE L'ONCHOCERCOSE, *Deuxième rapport, Org. mond. Santé Sér. Rapp. techn.*, **335**: 18 (1966).
11. PICQ, J. J. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, **51**: 591-597 (1971).
12. PICQ, J. J. ET AL. *Bull. Org. mond. Santé*, **45**: 517-520 (1971).
13. WILCOXON, F. *Biometrics*, **3**: 119 (1947).
14. WOODRUFF, A. W. ET AL. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **60**: 695-706 (1966).