

Bulinus truncatus, hôte intermédiaire de Schistosoma haematobium dans le bassin du fleuve Sénégal.

M. Sène (1)*, V. R. Southgate (2) & J. Vercruysse (3)

(1) Programme ESPOIR, Région médicale de St Louis, B.P. 394, St Louis, Sénégal.

(2) Biomedical Sciences Theme, Department of Zoology, The Natural History Museum, Cromwell Road, South Kensington, London SW7 5BD, Royaume-Uni.

(3) Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Salisburylaan 133, B-9820, Merelbeke, Belgique.

* Mariama Sène, B.P. 17688 Dakar-Liberté, Dakar, Sénégal. Fax : (221) 832 16 75. E-mail : senewade@refer.sn

Manuscrit n° 2591/Lisb.7. Reçu le 10 juin 2003. Accepté le 3 février 2004. 3e congrès européen de médecine tropicale et santé publique, Lisbonne, Portugal, 8-12 septembre 2002.

Summary: *Bulinus truncatus*, intermediate host of *Schistosoma haematobium* in the Senegal River Basin (SRB).

To assess the role of *Bulinus truncatus* in the transmission of urinary schistosomiasis in the Senegal River Basin (SRB), the relations between *B. truncatus* and *Schistosoma haematobium* were studied. The compatibility study shows that *B. truncatus* is susceptible to infection with *S. haematobium* in the Upper Valley of the SRB. The malacological follow up reveals the presence of *B. truncatus* naturally infected with schistosomes cercariae in the Middle Valley. The identification of these schistosomes as *S. haematobium* by the Single Strand Conformational Polymorphism technique (SSCP) confirms the participation of *B. truncatus* in the dynamic transmission.

Résumé :

Une étude des relations entre *Bulinus truncatus* et *Schistosoma haematobium* a été effectuée dans le bassin du fleuve Sénégal (BFS) pour évaluer le rôle de *B. truncatus* dans la transmission de la schistosomose urinaire au Sénégal. Les tests de compatibilité montrent une susceptibilité de *B. truncatus* à l'infestation par *S. haematobium* dans la Haute vallée du BFS. Le suivi malacologique révèle la présence de *B. truncatus* naturellement infestés dans la Moyenne vallée. En outre, l'identification de l'espèce *S. haematobium* chez ces bulins par la technique du Single Strand Conformational Polymorphism (SSCP) confirme la participation de *B. truncatus* dans la dynamique de transmission.

urinary schistosomiasis
Bulinus truncatus
Schistosoma haematobium
Senegal River Basin
Senegal
Sub-Saharan Africa

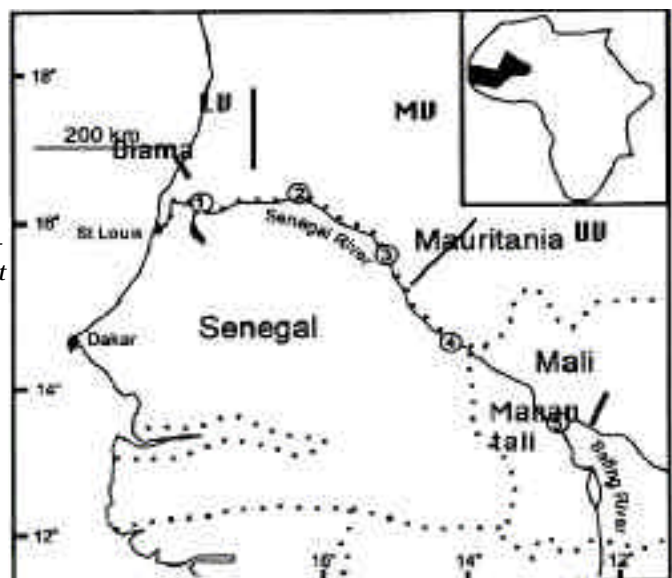
schistosomose urinaire
Bulinus truncatus
Schistosoma haematobium
bassin du fleuve Sénégal
Sénégal
Afrique intertropicale

Introduction

Le Sénégal est un pays sahélien situé en Afrique de l'Ouest et qui a connu des années de sécheresse pendant les années 70 (figure 1). C'est pour pallier à ce problème que les États du Mali, de la Mauritanie et du Sénégal ont créé l'Organisation de mise en valeur du fleuve Sénégal (OMVS) et entrepris de vastes projets de développement hydro-agricoles, notamment la construction des barrages de Diama et Manantali. Ces derniers ont entraîné des changements écologiques : l'une des conséquences a été la prolifération des bulins hôtes intermédiaires de *Schistosoma haematobium* et une expansion de la schistosomose urinaire. Parmi les cinq espèces de bulins (*Bulinus globosus*, *B. senegalensis*, *B. umblicatus*, *B. forskalii* et *B. truncatus*) rencontrées au Sénégal, les trois premières sont des hôtes intermédiaires confirmés et *B. truncatus* est la plus répandue dans tout le bassin du fleuve Sénégal. Cependant, cette espèce n'a jamais été considérée comme hôte intermédiaire de *S. haematobium* au Sénégal. Les études antérieures de terrain et de laboratoire sur les relations hôte/parasites (4, 9, 10) n'ont jamais mentionné la participation de *B. truncatus* à la transmission de la schistosomose urinaire au Sénégal ; or cette espèce de bulin est un important hôte intermédiaire de *S. haematobium* dans beaucoup de pays africains et surtout dans la région sahélienne de l'Afrique de l'Ouest. Par exemple,

Figure 1.

Carte du Sénégal localisant les barrages et les villages où *Bulinus truncatus* et *Schistosoma haematobium* ont été isolés.
Sketch map of Senegal showing the dams and villages where *Bulinus truncatus* and *Schistosoma haematobium* were isolated.



1 = Richard Toll; 2 = Podor; 3 = Matam; 4 = Bakel

COULIBALY & MADSEN (1) ont montré que *B. truncatus* est le principal hôte intermédiaire de *S. haematobium* au Mali. Pour la première fois, en 1996, ERNOULD a mentionné la présence de *B. truncatus* naturellement parasité par *S. haematobium* dans le delta du fleuve Sénégal (2). Il avait pu identifier l'espèce de schistosome par la méthode d'isoélectrofocalisation sur gel mince de polyacrilamide. Le rôle de *B. truncatus* dans la transmission de la schistosomose urinaire reste controversé. Pour élucider cette question, nous avons entrepris d'étudier le couple *S. haematobium*/*B. truncatus* sur le terrain et au laboratoire avec des approches variées.

Matériel et méthodes

Suivi malacologique

Un suivi malacologique a été effectué, par deux personnes, dans des villages du delta, de la Basse Vallée et de la Moyenne Vallée du fleuve Sénégal où des cas de schistosomose urinaire ont été signalés. Les prospections malacologiques se sont déroulées, une fois par mois, de décembre 1997 à décembre 1998, au niveau des principaux sites de contact (marigot, canaux d'irrigation, fleuve, rizière), à raison de 15 minutes par site.

Infestation expérimentale

Des *Bulinus truncatus* collectés dans les Basse et Haute vallées, respectivement à Richard-Toll et Bakel (Sénégal) et Kayes (Mali), élevés au laboratoire, ont été exposés aux souches de *Schistosoma haematobium* isolées à partir des urines d'écoliers naturellement infestés à Nguidjilone (Matam, Moyenne vallée) et Aroundou (Bakel, Haute vallée). Les urines positives sont recueillies dans des verres à pied recouverts d'un papier aluminium et laissées à décanter. Après décantation, le liquide surnageant est pipeté et de l'eau minérale "Pierval" est ajoutée aux verres à pied qui sont ensuite exposés sous la lumière pour induire l'éclosion des miracidia. Les mollusques ont été exposés, individuellement, à cinq miracidia, pendant toute la nuit (7).

Restriction Fragment Length Polymorphism analysis (RFLPs)

B. truncatus du Sénégal (code, NHM 1785) et *B. truncatus* du Mali (code, NHM 1797), élevés au laboratoire du Natural History Museum de Londres, ont été comparés par la technique du PCR-RFLP de la zone interne transcriptible du ribosome (ITS) en utilisant différentes enzymes de restriction (PstI, HindIII, EcoRI, BamHI, KpnI, BglII, ApaII, XbaI) selon la technique décrite par SENE & SOUTHGATE (6).

Single Strand Conformational Polymorphism analysis (SSCPs) et séquençage de l'ADN

Les schistosomes à analyser sont isolés à partir de *B. truncatus* naturellement infestés et récoltés dans le fleuve Sénégal à Nguidjilone (Moyenne vallée). Les *S. haematobium* témoins ont été isolés à partir des urines d'écoliers infestés à Nguidjilone et passés chez *B. wrightii* élevé au laboratoire. La souche de *S. curassoni* également utilisée comme témoin, a été collectée dans les abattoirs de Dakar et conservée au laboratoire du Natural History Museum de Londres. L'identification, la caractérisation et le séquençage partiel de l'ADN des schistosomes ont été faits grâce à la technique de SSCP décrite par KANE *et al.* (3).

Résultats

Le suivi malacologique, effectué de décembre 1997 à décembre 1998, montre la présence de *B. truncatus* naturellement infestés uniquement dans le fleuve Sénégal à Podor et Nguidjilone (Moyenne vallée). À Podor, *B. truncatus* naturellement infesté n'a été récolté qu'une seule fois, en juin 1998, avec une prévalence faible de 0,5 %. Par contre, à Nguidjilone, une augmentation de la prévalence de *B. truncatus* infesté a été observée de mai (10 %) à juillet 1998 (25 %).

Les résultats de l'étude des relations hôte/parasite sont résumés dans le tableau I. D'une manière générale, ils montrent une susceptibilité de *B. truncatus* à l'infestation par *S. haematobium* au Sénégal. Dans la Haute vallée, une assez bonne compatibilité est observée entre les souches malienne et sénégalaise de *B. truncatus* (Kayes, Mali; Bakel, Sénégal) et de *S. haematobium* (Bakel, Sénégal). Cependant, le taux de réussite à l'infestation est faible (3 %) et la période prépatente longue (huit semaines) chez les *B. truncatus* de la Basse vallée (Richard-Toll) exposés à *S. haematobium* de la Moyenne vallée (Nguidjilone, Matam). Le seul bulin trouvé parasité, huit semaines après infestation, émettait très peu de furcocercaires.

Tableau I.

Compatibilité entre *Schistosoma haematobium* et *Bulinus truncatus* d'origine différente dans le bassin du fleuve Sénégal.
Compatibility between *Schistosoma haematobium* and *Bulinus truncatus* of different origin in the Senegal River Basin.

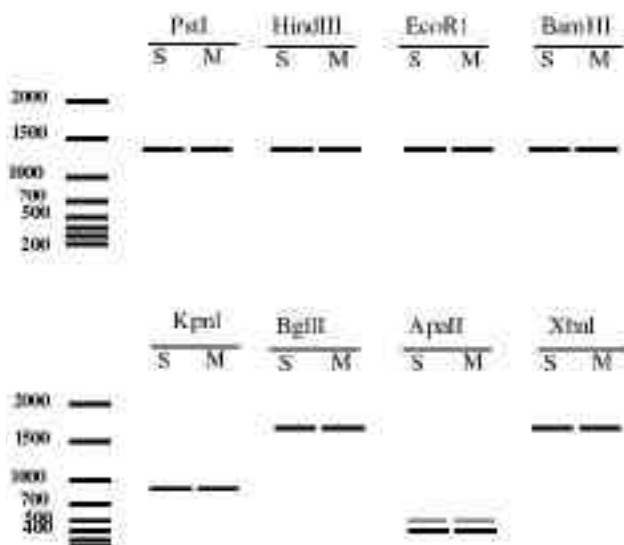
Schistosoma haematobium	origine de		nb et prévalence (%) de <i>Bulinus truncatus</i> exposés			période prépatente (SAI)
	Bulinus truncatus		vivants	infestés		
Moyenne Vallée (Nguidjilone, Matam)	Basse Vallée (Richard-Toll)		40	39 (98)	1 (3)	8
Haute Vallée (Aroundou, Bakel)	Haute Vallée (Bakel)		40	25 (63)	11 (44)	4
Haute Vallée (Aroundou, Bakel)	Haute Vallée (Kayes, Mali)		40	23 (58)	5 (22)	4

SAI = semaine après infestation. / SAI = week after exposition.

La comparaison des souches malienne et sénégalaise de *Bulinus truncatus* par RFLPs ne montre pas de différence. Les huit enzymes (PstI, HindIII, EcoRI, BamHI, KpnI, BglII, ApaII, XbaI) utilisées présentent les mêmes sites de restriction quelle que soit l'origine de *B. truncatus* (figure 2).

Figure 2.

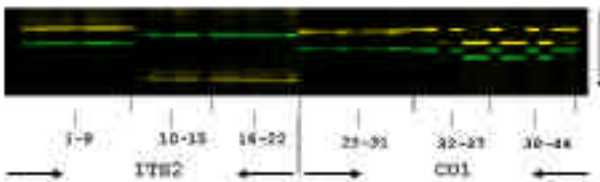
Gels d'agarose colorés au bromure d'éthidium montrant les sites de restriction des souches malienne et sénégalaise de *Bulinus truncatus* comparées par PCR-RFLP.
Agarose gels stained with ethidium bromide showing the restriction sites of Malian and Senegalese strains compared by the PCR-RFLP technique.



L'image électrophorétique des schistosomes isolés à partir des *B. truncatus* naturellement infestés à Nguidjilone présente le profil typique de l'espèce *S. haematobium* pour SSCP. La bande d'avant (jaune) migre plus vite que la bande inverse (verte) pour l'ITS2 (16-22). Par contre, pour le cytochrome oxydase (CO1), la bande inverse (verte) migre plus rapidement (38-44). En outre, la figure 3 révèle que l'espèce de schistosome isolée à partir des *B. truncatus* naturellement infestés et collectés à Nguidjilone (ITS2 16-22; CO1 38-44) présente le même profil que *S. haematobium* isolé chez des écoliers vivant dans le même village et passé chez *Bulinus wrighti* (ITS2 10-15 et CO1 32-37).

Figure 3.

Single Strands Conformational Polymorphism analysis (SSCPs). image électronique des fragments ITS2 et CO1 de *Schistosoma haematobium*. Electronic image of the Single Strands Conformational Polymorphism (SSCP) profiles for the ITS2 and CO1 *Schistosoma haematobium* fragments.



La flèche indique le sens de la migration. / The arrow indicates the direction of migration. The numerical ranges represent the following isolates.
 1-9 & 23-31 : *Schistosoma curassoni*
 10-15 & 32-37 : *Schistosoma haematobium* témoin isolé chez des écoliers à Nguidjilone et passé chez *Bulinus wrighti* / *Schistosoma haematobium* control isolated from schoolchildren in Nguidjilone and passed through *Bulinus wrighti*
 16-22 & 38-44 : *Schistosoma haematobium* isolé chez des *Bulinus truncatus* naturellement infestés à Nguidjilone. / *Schistosoma haematobium* isolated from naturally infected *Bulinus truncatus* in Nguidjilone

Le séquençage de l'ADN de *S. haematobium* des Moyenne et Haute vallées permet de classer les schistosomes en deux groupes selon la position des variations nucléotidiques (tableau II).

Tableau II.

Résumé des variations nucléotidiques chez *Schistosoma haematobium* de la Moyenne vallée (Nguidjilone) et de la Haute vallée (Aroundou, Sénégal et Kayes, Mali). L'amorce utilisée est le CO1.
 Summary of the nucleotide variations among *Schistosoma haematobium* from the Middle Valley (Nguidjilone) and the Upper Valley (Aroundou, Senegal and Kayes, Mali). The primer used is the CO1.

position des séquences	Nguidjilone et Aroundou	Nguidjilone, Aroundou et Kayes
32	C	A
38, 45, 60	G	T
39, 62	T	A
47, 57, 59, 65, 68, 89, 114	A	G
49	G	C
50	A	T
74, 101	T	G
95	G	A
110	T	C

Discussion

Les résultats obtenus sur le terrain et au laboratoire (infestations naturelle et expérimentale de *B. truncatus* par *S. haematobium*) nous ont permis de démontrer pour la première fois au Sénégal la participation de cette espèce de bulin dans la transmission de la schistosomose urinaire. Néanmoins, une variation du degré de susceptibilité de *B. truncatus* à l'infestation par *S. haematobium* en fonction de l'origine du parasite et/ou du mollusque, hôte intermédiaire a été observée. Les souches de parasite et de bulin, toutes deux de la Haute vallée, présentent une assez bonne compatibilité; or *B. truncatus* de la Basse vallée est très faiblement susceptible à l'infestation par *S. haematobium* de la Moyenne vallée. Cette variation de susceptibilité a été rapportée par d'autres auteurs.

ROLLINSON *et al.* (5) ont démontré expérimentalement que les populations de *B. truncatus* du Mali (Haute vallée) et du Sénégal (Basse vallée) sont compatibles avec *S. haematobium* du Mali (Haute vallée), mais incompatibles avec *S. haematobium* du Sénégal (Delta). Il faudrait noter que les souches de bulins utilisées par ROLLINSON *et al.* (5) sont les mêmes que celles analysées par SÈNE et SOUTHGATE (6) lors de la comparaison génétique des souches maliennes et sénégalaises de *B. truncatus* par RFLPs. SOUTHGATE *et al.* (8) ont montré que *S. haematobium* isolé à Diatar (département de Podor, Moyenne vallée) et dans les environs de la frontière Sénégal-Mali-Mauritanie sont compatibles avec *B. truncatus* du Mali (Haute vallée). Par contre, SÈNE *et al.* (7) ont rapporté que *S. haematobium* également récolté à Diatar et dans deux autres villages limitrophes (Guia et Ourou Madihou) est incompatible avec *B. truncatus* de la Basse vallée (Richard-Toll). En résumé, il ressort des études antérieures et de celle ci que :

- *B. truncatus* du Mali est compatible avec *S. haematobium* du Sénégal, quelle que soit son origine dans le Bassin du fleuve Sénégal (delta, Moyenne vallée et Haute vallée);
- *B. truncatus* du delta du fleuve Sénégal est compatible avec *S. haematobium* du Mali;
- Au Sénégal, seules les souches de *B. truncatus* et de *S. haematobium* de la Haute vallée sont compatibles.

En raison de la ressemblance génétique observée entre les souches maliennes (Haute vallée) et sénégalaises (delta) de *B. truncatus* et du fait que ces mêmes souches de bulin présentent des différences de susceptibilité à l'infestation par *S. haematobium* du Sénégal, on pourrait penser qu'il existe un polymorphisme génétique du parasite. En effet, le SSCPs et le séquençage de l'ADN montrent ce polymorphisme parmi les isolats de *S. haematobium* récoltés à Nguidjilone (Moyenne vallée) et Aroundou (Bakel, Haute vallée).

Enfin, il ressort de cette étude que *B. truncatus* est bien un hôte intermédiaire de *S. haematobium* dans le bassin du fleuve Sénégal: il a été trouvé naturellement infesté dans deux localités et les infestations expérimentales avec des souches de la Haute vallée ont été positives. Les différences de compatibilité observées pourraient être dues au polymorphisme observé chez *S. haematobium*. Néanmoins, la diversité génétique de *B. truncatus* mérite également d'être approfondie.

Références bibliographiques

1. COULIBALY G & MADSEN H - Seasonal density fluctuations of intermediate hosts of schistosomes in two streams in Bamako, Mali. *J Afr Zool*, 1990, **104**, 201-212.
2. ERNOULD JC - *Epidémiologie des schistosomes humains dans le Delta du fleuve Sénégal. Phénomène récent de compétition entre Schistosoma haematobium Sambon, 1907 et S. mansoni (Bilharz, 1852)*. Thèse Université Paris XII - Val de Marne, 1996.
3. KANE RA, BARTLEY J, STOTHARD JR, VERCRUYSE J, ROLLINSON D & SOUTHGATE VR - Application of single strand conformational polymorphism (SSCP) analysis with fluorescent primers for differentiation of *Schistosoma haematobium* group species. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000, **96**, supplement 1, S1/235-S1/241.
4. PICQUET M, ERNOULD JC, VERCRUYSE J, SOUTHGATE VR, MBAYE A *et al.* - The epidemiology of human schistosomiasis in the Senegal River Basin. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1996, **90**, 340-346.
5. ROLLINSON D, DE CLERCQ D, SACKO M, TRAORE M, SÈNE M, SOUTHGATE VR & VERCRUYSE J - Observations on compatibility between *Bulinus truncatus* and *Schistosoma haematobium* in the Senegal River Basin. *Ann Trop Med Parasitol*, 1997, **91**, 371-378.

6. SÈNE M & SOUTHGATE VR - *Comparison of Bulinus truncatus from Mali and Senegal, West Africa, by restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis of the ribosomal internal transcribed spacer DNA (ITS)*. Proceedings of the workshop on Medical Malacology in Africa, Harare, Zimbabwe, September 22-26, 1997, 231-236.
7. SÈNE M, SOUTHGATE VR, DE CLERCQ D, LY A & VERCRUYSE J – Implication of *Bulinus truncatus* in the transmission of urinary schistosomiasis in Senegal, West Africa. *Ann Trop Med Parasitol*, 2002, **96**, 175-180.
8. SOUTHGATE VR, DE CLERCQ D, SÈNE M, ROLLINSON D, LY A & VERCRUYSE J - Observations on the compatibility between *Bulinus* spp and *Schistosoma haematobium* in the Senegal River Basin. *Ann Trop Med Parasitol*, 2000, **94**, 157-164.
9. SOUTHGATE VR, ROLLINSON D, ROSS G, KNOWLES RJ & VERCRUYSE J – On *Schistosoma curassoni*, *S. haematobium*, *S. bovis* from Senegal: development in *Mesocricetus auratus*, compatibility with species of *Bulinus* and their enzymes. *J Nat History*, 1985, **19**, 1249-1267.
10. VERLÉ P, STELMA F, DESREUMAUX P, DIENG A, DIAW O *et al.*- Preliminary study of urinary schistosomiasis in a village in the Delta of the Senegal River Basin, Senegal. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1994, **88**, 401-405.