

Étude sur l'existence possible d'un réservoir animal dans la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense* ⁽¹⁾

Daniel BERL ⁽²⁾

Jean CARRIÉ ⁽³⁾

Jean-Jacques LEMASSON ⁽⁴⁾

Résumé

Une série de prélèvements de sang d'animaux domestiques a été réalisée dans le foyer de trypanosomiase humaine africaine de Bafia en saison sèche 1981. Plusieurs techniques d'examen (sang frais, goutte épaisse, frottis, IFI) ont permis de mettre en évidence des animaux présentant des réponses immunologiques positives et très positives. Ces résultats, s'ils ne permettent pas des conclusions finales, mettent en évidence les diverses étapes pour une étude encore plus précise du problème du réservoir animal.

Mots-clés : Réservoir animal — IFI — Trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense*.

Summary

STUDY ON THE POSSIBILITY OF AN ANIMAL RESERVOIR IN THE HUMAN GAMBIAN SLEEPING SICKNESS

A series of blood samples has been taken from domestic animals in the HGSS foci of Bafia, during the dry season 1981. Several laboratory techniques (fresh-blood, thick drop, thin layer, IFI) have shown positive and very positive answers in IFI, in some of the animals. If these results do not give final conclusions, they lead to new steps that should be realized for a more precise study of the animal reservoir problem.

Key words : Animal reservoir — IFI — Human Gambian Sleeping Sickness.

1. INTRODUCTION

Au cours de la saison sèche 1981, nous avons procédé à une série de recherches en collaboration avec les Services Techniques de l'OCEAC, sur l'éventualité d'un réservoir animal dans la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense* dans un foyer actif de cette maladie.

Pour *Glossina palpalis palpalis*, vecteur local de la trypanosomiase humaine, les porcs sont des proies privilégiées parmi les animaux domestiques. Ils sont très nombreux et, en liberté 9 mois sur 12, circulent constamment entre le village et les points d'eau. Ils sont donc en contact permanent avec les hommes et les glossines. Sont-ils capables de contracter et de laisser se développer *Trypanosoma*

(1) Ce travail a été réalisé dans le cadre des accords passés entre le Ministère de la Santé publique du Cameroun et l'O.R.S.T.O.M.

(2) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M., B.P. 1857, Yaoundé et Centre Pasteur, B.P. 1274, Yaoundé, Cameroun.

(3) Médecin chef des Services techniques de l'O.C.E.A.C., B.P. 288, Yaoundé.

(4) Technicien entomologiste O.R.S.T.O.M., Yaoundé.

gambiense ? Cela permettrait la conservation et la persistance de la trypanosomiase en dehors de l'homme. Si tel est le cas, cela rendrait vain tout espoir d'éradiquer cette endémie sans l'élimination ou le traitement de ces animaux. En effet, comme le note Lapeyssonie (1969), un réservoir animal permettrait une persistance latente et discrète du virus puis son éventuelle résurgence dans la population humaine, même après le contrôle de l'endémie, déjà obtenu dans plusieurs foyers alors qu'une réelle éradication n'a jamais été réalisée.

Une première enquête (Carrié, 1978) sur des porcs et des chiens a montré que certains d'entre eux étaient porteurs non seulement de trypanosomiasés typiquement animales (*Trypanosoma congolense* et *T. vivax*), mais aussi de trypanosomes dont les caractéristiques immunologiques suggéraient une parenté avec *T. gambiense*. Nous avons donc décidé de renouveler ces expériences en augmentant le nombre des animaux étudiés et en utilisant plusieurs techniques de dépistage des trypanosomes

2. ZONE D'ÉTUDE

Nous avons travaillé dans une zone située au centre du foyer de maladie du sommeil du département du M'Bam près de Bafia, à 150 km au NNO de Yaoundé.

L'enquête a été réalisée en deux fois à un mois d'intervalle, dans trois villages, choisis pour le nombre élevé de sommeilleux dépistés dans la population au cours des années précédentes, et la présence de nombreux porcs. Il s'agit de Baliama (où avait lieu l'enquête de 1978), d'Essendé et de Guehola école.

3. TECHNIQUES UTILISÉES

3.1. Sur le terrain

Les animaux, porcs, chiens, chèvres et moutons, ont été immobilisés par force, puis, dans la mesure du possible, nous avons procédé, chez ceux de la première série (février), à trois types de prélèvements :

- sang frais (examiné sur place entre lame et lamelle)
- goutte épaisse (colorée sur place au Giemsa)
- sang sec (sur papier Wattman n° 2, conservé en récipient fermé, avec de l'Actigel)

Pour le contrôle des animaux suspects, ceux de la deuxième série (mars), deux opérations supplémentaires ont été pratiquées :

- frottis (même coloration que la goutte épaisse)
- centrifugation en tube capillaire (technique de Woo, 1970).

Tous ces prélèvements étaient faits à l'oreille des animaux, qui étaient alors identifiés par une marque en aluminium stérile, portant un numéro, fixée à l'autre oreille. Les chiens étaient repérés par leur nom. Tous les animaux étudiés appartenant à un même propriétaire étaient regroupés sur des fiches, qui étaient ensuite classées par village.

Lorsque des prélèvements (sang frais ou goutte épaisse) examinés sur place s'avéraient très riches en trypanosomes, une ou deux souris étaient inoculées.

3.2. Au laboratoire

3.2.1. EXAMENS PARASITOLOGIQUES

Les frottis et les gouttes épaisses ont été examinés au microscope pour la recherche des trypanosomes et leur identification éventuelle.

3.2.2. EXAMENS IMMUNOLOGIQUES

Les prélèvements de sang sec, en stock au congélateur, ont été préparés pour une étude en immunofluorescence indirecte (IFI). La technique utilisée est celle décrite par Frézil *et al.* (1974), qui dérive de celles utilisées par Mattern (1961), Sadun *et al.* (1963), Courtois et Bideau (1966) et Wery *et al.* (1970).

Cette technique parfaitement au point, utilisée dans les enquêtes de routine au Cameroun pour le dépistage de la maladie du sommeil par l'OCEAC, ainsi qu'en Afrique de l'Ouest par les équipes du Centre Muraz de l'OCCGE (Duvallat *et al.*, 1978, et d'autres auteurs), a pu être reprise telle quelle pour ces études sur les animaux, à la suite des observations suivantes :

- des sérums de sommeilleux, ou d'animaux expérimentalement infestés par *T. gambiense* provoquent la fluorescence d'étalements de ce trypanosome.
- la fixation des anticorps humains ou animaux, sur l'antigène, pouvait être révélée par une globuline antihumaine marquée à la fluorescéine (Globuline

de chèvre anti-immunoglobulines totales humaines, BioMérieux).

— les sérums humains ou animaux d'individus infestés par *T. gambiense*, provoquaient également, mais à un moindre degré, la fluorescence de *T. congolense* ou *T. lewisi* utilisés comme antigènes.

— les sérums d'animaux naturellement infestés

par *T. congolense*, mis en présence de l'antigène *T. congolense*, provoquaient une nette fluorescence ; celle-ci apparaît encore, mais plus faiblement avec l'antigène *T. gambiense*.

Ces résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Antigène	Sérum testé (humain ou animal)	Résultats avec les globulines anti HMM marquées
Tg	Tg +	Forte positivité
Tg	Tc +	Faible positivité
Tc	Tg +	Faible positivité
Tc	Tc +	Forte positivité
Tg ou Tc	Sérum non infesté	Négatif

Nous avons donc constaté que des réactions positives en IFI pouvaient être observées, quelle que soit l'origine du sérum de l'hôte infesté, avec différents trypanosomes antigènes ; que le titre des sérums était le plus élevé avec l'antigène homologue ; et que faute de mieux, une globuline de chèvre antiglobuline HMM, marquée à la fluorescéine, pouvait révéler des anticorps de différentes origines animales.

4. RÉSULTATS

4.1. Des examens parasitologiques

Les résultats de la première série sont donnés dans les tableaux I et II. Ils montrent qu'à l'examen frais 6 % des animaux parasités ont été dépistés. L'examen microscopique a montré que, dans ce cas, toutes les lames positives étaient porteuses de *T. congolense*.

En goutte épaisse le nombre de cas positifs détectés passe à 22 %. Là encore seul *T. congolense* a été dépisté. Ce chiffre ne correspond qu'à une partie des animaux infestés, car une goutte épaisse

négative ne signifie pas forcément que l'animal est indemne de trypanosomes ; ceci est corroboré par le fait que plusieurs prélèvements « goutte épaisse négative » ont présenté une fluorescence positive qui indique la présence soit d'un trypanosome non détecté, soit d'anticorps circulants, reflet d'une affection ne se manifestant plus cliniquement.

4.2. Des examens immunologiques

Les prélèvements de sang animal devaient être examinés contre des préparations de *T. congolense* et *T. gambiense* ; nos étalements de *T. congolense* trop anciens, ont fourni des résultats peu satisfaisants, aucune réaction n'étant franchement positive. Aussi pour les examens sur l'antigène *T. gambiense*, nous avons relevé seulement les réactions nettement positives, les réactions faibles ou modérées étant présumées induites par des infections à *T. congolense*.

Sur 363 prélèvements examinés lors de la première série, 27 ont provoqué une nette fluorescence de l'antigène *T. gambiense* ; 15 ont été notés positifs (+) et 12 très fortement positifs (++), ces derniers donnant une fluorescence aussi intense que des prélèvements de trypanosomés humains. Ces 27 animaux (9 chiens, 16 porcs et 2 chèvres) ont donc été considérés comme susceptibles d'être infestés par *T. gambiense*.

Si l'on compare les pourcentages des gouttes épaisses positives chez les chiens (14 %) et les porcs (31 %) à celui des IFI + et ++ (18 %), on observe une bonne correspondance des techniques. Par contre pour des pourcentages assez similaires, les chèvres (17 %) et les moutons (29 %) ne présentent pratiquement plus de réactions à l'IFI

TABLEAU I

	BALJAMA	ESSENDE	GUEBOBA éc	Total
CHIENS	13	14	19	46
CHEVRES	35	156	23	214
PORCS	39	49	16	104
MOUTONS	3	25	3	31
Total	90	244	61	395

TABLEAU II

	Examens frais		Gouttes épaisses			IFI			% de +et++
	-	+	-	+	% de +	-	+	++	
CHIENS	43	0	41	7	14	41	3	6	18
CHEVRES	151	14	172	36	17	200	0	2	1
PORCS	62	1	69	32	31	71	12	14	-
MOUTONS	24	3	22	9	29	24	0	0	-
Total	280	18	304	84		336	15	12	
	298		388			363			
	1095								

TABLEAU III

	Examens frais		Gouttes épaisses		Capillaires		IFI			nombre de TC +	nombre d'animaux
	-	+	-	+	-	+	-	+	++		
CHIENS	7	1	8	3	2	2	2	6	1	2	6
PORCS	5	1	12	7	1	5	2	14	0	5	8
CHEVRES	0	1	0	3	1	0	0	0	2	1	1
Total	12	3	20	13	4	7	4	20	3	8	15

il peut y avoir plusieurs examens de ces trois types par animaux

(1 et 0 %). On peut probablement expliquer cette discordance des résultats entre les deux techniques par la parenté étroite existant entre les globulines utilisées (globulines de chèvres anti HMM) et les propres antigènes des animaux testés.

Trois chiens et un porc, tous fortement positifs, étaient décédés lors du deuxième passage de l'équipe, et comme plusieurs porcs avaient été sacrifiés par leurs propriétaires, le contrôle a donc porté sur 6 chiens, 8 porcs et 1 chèvre. Huit de ces animaux (tabl. III) étaient porteurs de *T. congolense*, aucun trypanosome morphologiquement semblable à *T. gambiense* n'a été observé.

Les résultats des divers examens pratiqués sont présentés dans le tableau III.

Deux animaux (1 chien et 1 porc) précédemment ++ ont redonné une IFI identique; un chien de cette même série a, par contre, donné une IFI plus faible. A l'opposé, deux porcs de l'ancienne série + ont présenté, dans la deuxième expérience, des IFI ++; alors que d'autres (6 porcs et 1 chien) ont redonné des IFI + ou même plus faibles.

Certains animaux ont présenté une ou deux gouttes épaisses positives pour *T. congolense*,

et un test IFI fortement positif; deux explications peuvent être données, soit une double infection, soit une réaction immunologique individuelle particulièrement élevée.

Enfin on a noté deux cas intéressants: un porc et un chien ont présenté jusqu'à 6 gouttes épaisses négatives et des IFI ++.

Les inoculations aux souris n'ont donné aucune parasitémie à *T. gambiense* décelable. Une souche de *T. congolense* a, par contre, été isolée et est actuellement conservée sur souris à l'OCEAC.

5. CONCLUSIONS

Si la preuve de l'existence d'un réservoir animal dans la trypanosomiase humaine africaine à *T. gambiense* n'a pu être apportée par ces études, existence qui a déjà été pressentie de manière très affirmative par les expériences de plusieurs auteurs, (*in* Molyneux, 1973 et 1980, Frézil, 1981) on peut néanmoins conclure sur plusieurs points.

La technique d'immunofluorescence indirecte permet, comme chez l'homme, le dépistage d'ani-

maux touchés par une trypanosomiase. Le maintien de souches des divers trypanosomes impliqués, au laboratoire, serait de la plus grande utilité et permettrait aux services vétérinaires de réaliser des enquêtes de prévalence dans les troupeaux et d'adapter les campagnes de chimiothérapie et de chimioprophylaxie, de manière plus économique.

L'utilisation d'antisérums homologues marqués serait évidemment recommandée, mais pas aussi importante que la conservation des antigènes correspondant aux affections étudiées.

L'existence d'animaux présentant une forte réaction en IFI (sur *T. gambiense*) sans que la présence du trypanosome ne soit établie dans les examens directs, suggère l'infection (probablement discrète) de ces animaux par un trypanosome autre que *T. congolense*. Ces animaux feraient une parasitémie soit très faible et continue, soit plus variable et sujette à des cycles. Le dépistage n'en serait possible que grâce à la mise en place des étapes suivantes :

1 — Possibilité de contrôle continu de ces ani-

maux suspects, donc achat et garde en animalerie.
2 — Existence de lames antigéniques avec les sérums homologues.

3 — Existence d'un élevage de glossines pour les études du passage de ces trypanosomes de l'animal à la glossine, du cycle chez l'insecte, puis des possibilités de transmission à un autre animal.

Seules ces étapes pourraient permettre de progresser dans l'étude de l'existence d'un réservoir animal dans la trypanosomiase humaine africaine à *T. gambiense*.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout particulièrement le personnel des Services Techniques de l'OCEAC et du service d'Entomologie Médicale du Centre Pasteur du Cameroun pour le travail de terrain et de laboratoire qu'il a effectué et sans lequel cette étude n'aurait pu être menée à bien.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.
le 1^{er} septembre 1982.

BIBLIOGRAPHIE

- CARRIÉ (J.), 1978. — Note sur les petits animaux domestiques et les trypanosomiasis. *Rapport fin. XII^e Conf. tech. OCEAC*, 2 : 523-528.
- COURTOIS (D.) et BIDEAU (J.), 1966. — L'immunofluorescence appliquée au diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine. Valeur comparative avec le titrage de l'immunoglobine IgM. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 59, 5 : 809-817.
- DUVALLET (G.) *et al.*, 1978. — Fiabilité de la réaction d'immunofluorescence indirecte pour le diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine. *Méd. Trop.*, 38, 5 : 513-517.
- FRÉZIL (J.-L.), 1981. — La Trypanosomiase humaine en République Populaire du Congo. *Thèse d'État Doct. Sc.* — Faculté ORSAY, 10/10/81.
- FRÉZIL (J.-L.) *et al.*, 1974. — Application et valeur de la technique d'immunofluorescence indirecte au dépistage et à la surveillance épidémiologique de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. *Cah. O.R.S.T.O.M. sér. Ent. méd. et Parasitol.* vol. XII, n^o 2 : 111-126.
- LAPEYSSONIE (L.), 1969. — Existence possible d'un réservoir de virus animal dans la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense*. Réflexions épidémiologiques et conséquences pratiques. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 62 : 335-343.
- MATTERN (P.), 1961. — Utilisation de la réaction d'immunofluorescence pour le diagnostic de la trypanosomiase. *Rapport fin. V^e Con. tech. OCCGE*, 1 : 309.
- MEHLITZ (D.), 1979. — Trypanosome infections in domestic animals in Liberia. *Tropenmed. Parasit.*, 30 : 212-219.
- MOLYNEUX (D. H.), 1973. — Animal reservoirs and gambiaian trypanosomiasis. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 53, 6 : 605-618.
- MOLYNEUX (F. H.), 1980. — Animal reservoirs and residual « foci » of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness in West Africa. *Insect Sci. Application*, 1 : 59-63.
- SADUN (D. H.) *et al.*, 1963. — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of african and american Trypanosomiasis in man. *J. Parasitol.*, 49 : 385-388.
- WERY (M.) *et al.*, 1970. — The diagnosis of human african trypanosomiasis (*T. gambiense*) by the use of fluorescent antibody test. 1. Standardization of an easy technique to be used in mass surveys. *Ann. Soc. belge Méd. trop.*, 50, 5 : 613-634.
- Woo (P. T. X.), 1970. — The haematocritcentrifuge technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. *Acta tropica*, 27 : 384-386.