

**L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE  
DANS LA SURVEILLANCE THÉRAPEUTIQUE  
DES TRYPANOSOMES (NOTE PRÉLIMINAIRE)**

Par J.-L. FRÉZIL (\*), J. COULM (\*\*) et J.-C. ALARY (\*\*\*) (\*\*\*\*)

- (\*) Parasitologiste, Maître de Recherches à l'O. R. S. T. O. M. Brazzaville.  
(\*\*) Médecin en Chef du Service de Santé des Armées.  
(\*\*\*) Médecin statisticien-épidémiologiste.  
(\*\*\*\*) Séance du 13 décembre 1978.

Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'O. M. S. Il a été exécuté dans le cadre de l'accord  
O. C. E. A. C.-O. R. S. T. O. M. en matière de recherche médicale.

11 MARS 1981  
O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 86  
Cote Bex 1

- 6 AOUT 1979

IMPRIMERIE BARBOUÏS S. A. LAMAL

~~O. R. S. T. O. M.~~  
Collection de Référence  
n° 9793 Eur. Red.

B 86 ex 1

## AVANT-PROPOS

La présente communication donne les résultats essentiels d'un travail trop volumineux pour être présenté ici en totalité, et qui sera prochainement publié *in extenso* par ailleurs.

## INTRODUCTION

Depuis quelques années, nous utilisons la technique d'immunofluorescence indirecte (WÉRY *et al.*, 1970), pour le dépistage de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* en République populaire du Congo.

Nous avons déjà précisé la fiabilité de cette méthode aussi bien en médecine de masse qu'en médecine individuelle (FRÉZIL *et al.*, 1974, 1975, 1976, 1977, 1978). Reste à savoir si cette méthode est également intéressante dans la surveillance des trypanosomés traités, et, en particulier, quelle est sa valeur par rapport à l'examen albuminocytologique du LCR.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Plutôt que de nous consacrer à l'étude longitudinale de l'évolution des anticorps, jour après jour, sur un petit nombre de sujets sélectionnés, nous avons essayé d'acquérir une vue plus vaste du problème en effectuant des tests sur tous les trypanosomés en contrôle au Service des grandes endémies de Brazzaville. Ainsi, nos résultats portent sur 181 malades (dont 61 non testés avant traitement), 22 cas de rechute et quelques cas « bizarres ».

Tous les malades en contrôle subissent 3 tests en IFI (confetti, sérum et LCR) selon une méthodologie déjà précisée (FRÉZIL *et al.*, *loc. cit.*).

Pour l'analyse de nos résultats, les malades ont été séparés en 4 groupes, en fonction de la cytologie du LCR.

Nous distinguons ainsi :

- 0 - 3 cellules/mm<sup>3</sup> = 1<sup>re</sup> période,
- 4 - 20 cellules/mm<sup>3</sup> = début 2<sup>e</sup> période,
- 21 - 100 cellules/mm<sup>3</sup> = 2<sup>e</sup> période confirmée,
- + de 100 cellules/mm<sup>3</sup> = 2<sup>e</sup> période avancée.

## OBSERVATIONS

*Étude des sujets guéris.**Analyse de la sérologie*

Les résultats de la sérologie chez les sujets guéris ont été suffisamment importants pour pouvoir être analysés statistiquement.

Nous avons pu ainsi dégager les observations suivantes :

— le titre de positivité de l'IFI décroît assez rapidement dans le temps ; toutefois, les sérums de certains malades peuvent présenter une réaction douteuse résiduelle longtemps après le début du traitement (36 mois pour certains) ;

— les sérums se négativent en IFI moins rapidement que les LCR. En effet, plus de 40 0/0 des sérums sont positifs ou ont une positivité résiduelle à la négativation du LCR. Ce qui confirme les observations de COURTOIS et BIDEAU, en 1966, et de NOZAIS *et al.*, en 1975 ;

— la durée de négativation des sérums est fonction de la période de la maladie. Ainsi le délai médian de négativation est de :

- moins de 6 mois pour le groupe 0 - 3 cellules/mm<sup>3</sup>,
- moins de 9 mois pour le groupe 4 - 20 cellules/mm<sup>3</sup>,
- moins de 12 mois pour le groupe 21 - 100 cellules/mm<sup>3</sup>,
- moins de 18 mois pour le groupe + de 100 cellules/mm<sup>3</sup>.

On ne peut mettre en évidence de différence statistiquement significative entre les groupes 0-3 et 4-20 cellules, ni entre les groupes 21-100 et plus de 100 cellules.

Par contre, il existe une différence significative (test de la médiane  $\chi^2 = 4,478$ )

entre l'ensemble des malades des 2 premiers groupes et l'ensemble des malades des 2 derniers.

Pour les groupes de 1<sup>re</sup> période + début de 2<sup>e</sup> période, au 12<sup>e</sup> mois, entre 84,2 et 96,8 0/0 des sérums sont négativés au risque  $\alpha = 5$  0/0.

Pour les groupes de 2<sup>e</sup> période confirmée + 2<sup>e</sup> période avancée, au 18<sup>e</sup> mois, entre 66,2 et 96,1 0/0 des sérums sont négativés au risque  $\alpha = 5$  0/0.

#### *Analyse des LCR.*

Nous ne reviendrons pas sur l'étude en IFI du LCR avant traitement (FRÉZIL *et al.*, 1977), mais nous rappellerons que sa fluorescence ne suit pas forcément les résultats de l'examen albuminocytologique.

En effet, nous avons pu observer des LCR de 1<sup>re</sup> période fluorescents : cette particularité étant liée au fait que les perturbations cytochimiques sont tardives par rapport à l'apparition du trypanosome dans les centres nerveux.

Nous avons également observé (FRÉZIL *et al.*, *loc. cit.*) des LCR de 2<sup>e</sup> période avancée négatifs en IFI, beaucoup plus difficiles à interpréter.

Quoi qu'il en soit, d'une façon générale, le comportement en IFI du LCR se modifie à partir de 20 cellules/mm<sup>3</sup> ; la différence entre les échantillons en deçà et au delà de cette limite étant hautement significative ( $P = 1/1.000.000$ ).

L'analyse des LCR négatifs avant traitement montre qu'ils conservent cette négativité jusqu'à la guérison complète du malade, et ceci, quel que soit le résultat initial de la cytologie.

Pour l'étude de l'évolution des anticorps fluorescents dans les LCR positifs avant traitement, nous avons disposé de 23 malades et nous avons pu constater que dans la presque totalité des cas (18/20), les LCR se négativent en IFI en moins de 12 mois.

Comme à leur négativation en IFI, certains LCR montrent encore des perturbations cytochimiques, on peut penser que la réaction d'immunofluorescence indirecte donne une indication plus précoce de la guérison que l'examen albuminocytologique.

#### *Étude des malades en rechute.*

Les 22 cas de rechute qui ont été suivis comprennent des rechutes confirmées T + et des rechutes cliniques et biologiques (nous entendons par là les malades dont l'état continue à se dégrader après le traitement, jusqu'à la mort, sans que le trypanosome soit visible dans le LCR et bien que celui-ci reste perturbé).

Dans la grande majorité des cas, la sérologie des malades en rechute reste positive en IFI. Elle peut cependant être douteuse ou même négative (1 fois). *Le LCR, par contre, reste en permanence fortement positif en IFI.*

Cette divergence de résultats est sans doute liée au fait que les traitements successifs parviennent (peut-être) à éliminer les trypanosomes du sang tandis que ces parasites persistent toujours dans les centres nerveux.

Dans tous les cas de rechute, l'albuminocytologie reste perturbée bien qu'elle montre parfois des fluctuations.

*Cas particuliers.**Fluorescence des noyaux seuls.*

Chez un tout petit nombre de trypanosomés, la fluorescence concerne uniquement le noyau et non l'ensemble du parasite.

Cette fluorescence nucléaire a été également constatée chez un trypanosomé en rechute.

Chez un autre malade, nous avons observé une fluorescence intense des noyaux avec le sérum et le LCR jusqu'à 36 mois après le traitement, alors que l'albuminocytologie était revenue depuis longtemps à la normale. Ce malade, qui, en outre, présentait un état clinique satisfaisant, a été estimé guéri.

Dans un autre cas, la fluorescence des noyaux a disparu avec le LCR mais a persisté avec le sérum jusqu'à 36 mois après le traitement.

Enfin, depuis 2 ans, nous suivons un sujet qui présente ce type de réaction sans avoir jamais montré le moindre signe de trypanosomiase.

En fait cette réaction nucléaire est liée à un phénomène de production d'auto-anticorps bien connu dans d'autres affections que la trypanosomiase. Elle est donc aspécifique.

*Discordances IFI-albuminocytologie.*

Dans 3 cas nous avons observé des anomalies ou même des contradictions très nettes entre les résultats de l'IFI et ceux de l'albuminocytologie.

Le premier cas concerne un malade qui, 6 mois après une première rechute était négatif en IFI dans le LCR et le sérum et présentait une cytochimie subnormale.

Puis ses examens se sont progressivement perturbés jusqu'à la 2<sup>e</sup> rechute qui ne s'est manifestée que 2 ans 1/2 après la première.

Cette situation est peut être-tout simplement liée à une nouvelle contamination mais il est également possible que le traitement ait éliminé tous les trypanosomes circulants et qu'il y ait eu ensuite une 2<sup>e</sup> poussée parasitémique tardive à partir de formes cryptiques.

Dans les 2 autres cas, par contre, la cytochimie du LCR est restée perturbée tandis que les IFI se négativaient.

Un de ces malades a rechuté au bout de 30 mois, après que l'IFI se soit à nouveau positif.

L'autre, 18 mois après le traitement, montre toujours un test IFI négatif avec 219 cellules et 0,40 g./litre d'albumine. Mais ici la rechute n'est pas encore confirmée.

## COMMENTAIRES

Les résultats de notre étude permettent de dégager les observations pratiques suivantes :

— la chute des anticorps sériques après traitement constitue, certes, une indication favorable, mais n'exclut pas la possibilité de rechute,

— chez les malades à LCR négatif au départ, la persistance de cette négativité associée à une baisse sensible des anticorps sériques 6 mois après le traitement pronostique la guérison,

— une positivation en IFI d'un LCR négatif au départ, 6 mois après le traitement, indique la rechute avec certitude,

— chez les malades à LCR positif au départ, la persistance ou augmentation de la fluorescence dans le LCR 12 mois après le traitement est une bonne indication de rechute.

En dehors de ce cadre précis, on pourra toujours observer des cas exceptionnels qui ne peuvent être décelés que par le manque de corrélation entre les résultats de l'examen immunologique et ceux de l'examen clinique. De tels cas gardent tout son intérêt à l'examen albuminocytologique.

La technique d'immunofluorescence indirecte, qui a largement prouvé son utilité dans le dépistage de la trypanosomiase humaine africaine, se montre donc également très intéressante sur le plan de la surveillance thérapeutique des malades.

Elle permet, en effet, de pronostiquer leur évolution moins d'un an après le traitement.

Cette méthodologie est déjà employée en République populaire du Congo depuis plus de 3 ans où elle donne toutes satisfactions.

#### RÉSUMÉ

Les auteurs étudient l'évolution des anticorps fluorescents dans le sérum et le LCR des trypanosomés traités, lors de leur visite de contrôle périodique à Brazzaville. Ils ont pu ainsi suivre plus de 200 cas pendant 3 ans.

La conclusion pratique de ce travail est que, dans la grande majorité des cas, la technique d'immunofluorescence permet de pronostiquer la guérison ou la rechute du malade moins d'un an après le traitement.

*Mots-clés* : Trypanosomiase africaine, Immunologie, Immunofluorescence.

#### SUMMARY

The authors have studied the evolution of fluorescent antibodies in the serum and the C. S. F. of treated Sleeping Sickness patients regularly examined when coming to Brazzaville for their periodical controls.

They have observed more than 200 patients who were followed during three years.

The authors demonstrated that curing patients show the following particularities:

- serum becomes negative less rapidly than C. S. F.,
- delay of negativation of the serum varies according to the stage of the disease,
- the C. S. F. positive in fluorescence becomes negative in less than twelve months.

On the other hand, relapsing patients show some striking differences, such as:

- C. S. F. remains always strongly fluorescent positive,
- the serology remains positive too, but can present some fluctuations.

Some very particular cases such as « nuclear fluorescence only » or discrepancy between IFAT and clinico-parasitological data are then analysed. From a practical point of view, it appears that, as often as not, the evolution of fluorescent antibodies in serum and in C. S. F. allows to prognose either the cure or the relapse less than one year after treatment.

*Key-words:* African trypanosomiasis, Immunology, Fluorescent antibody technique.

#### BIBLIOGRAPHIE

- COURTOIS (D.) et BIDEAU (J.). — L'immunofluorescence appliquée au diagnostic de la Trypanosomiase humaine africaine. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1966, **59** (5), 809-817.
- FRÉZIL (J.-L.), CARRIE (J.) et RIO (F.). — 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. Parasitol.*, 1974, **XII** (2), 111-126.
- FRÉZIL (J.-L.) et COULM (J.). — Apport de l'immunofluorescence indirecte dans le dépistage et le contrôle de la Trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. *Rapp. final. 10<sup>e</sup> Conf. Techn. O. C. E. A. C., Yaoundé*, 1975, 160-173.
- FRÉZIL (J.-L.) et COULM (J.). — Étude épidémiologique du foyer réurgent de Comba. *Rapp. final. 11<sup>e</sup> Conf. Techn. O. C. E. A. C., Yaoundé*, 1976, 218-227.
- FRÉZIL (J.-L.) et COULM (J.). — Conception actuelle de la stratégie antisommeilleuse en République Populaire du Congo. *Coll. Intern. Tryp. Hum. Afr.* Anvers, décembre 1976. *Ann. Soc. belge Méd. Trop.*, 1977, **57** (4-5), 315-322.
- FRÉZIL (J.-L.) et COULM (J.). — Étude en immunofluorescence indirecte de 200 cas de trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1977, **70** (1), 65-74.
- FRÉZIL (J.-L.), COULM (J.) et ALARY (J.). — L'immunofluorescence indirecte et la stratégie de lutte contre la Trypanosomiase humaine en Afrique Centrale. *Méd. Trop.*, 1977, **37** (3), 285-289.
- FRÉZIL (J.-L.) et COULM (J.). — Étude de la Trypanosomiase humaine africaine dans le nouveau foyer de Mantsoumba. *Journ. Médic. Langue fr.*, 1978, 13-18 février 1978, Kinshasa (Sous presse dans *Méd. Afr. Noire*).
- NOZAIS (J.-P.), GIORDANO (C.), DOUCET (J.) et BERTRAND (E.). — Intérêt de l'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic de la Trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1975, **68** (4), 390-398.
- WERY (M.), WERY-PASKOFF (S.) et VAN WETTERE (P.). — The diagnosis of human African trypanosomiasis (*T. gambiense*) by the use of fluorescent antibody test. I. Standardisation of an easy technique to be used in mass surveys. *Ann. Soc. belge Méd. Trop. Parasitol.*, 1970, **50** (5), 613-634.