

L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET LA STRATEGIE DE LUTTE CONTRE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE EN AFRIQUE CENTRALE

par

J.-L. FREZIL (1), J. COULM (2) et J. ALARY (3)

SUMMARY

INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE AND STRATEGY FOR CONTROL OF HUMAN TRYPANOSOMIASIS IN CENTRAL AFRICA

After having assessed the reliability of the indirect fluorescent antibody test for human trypanosomiasis with *Trypanosoma gambiense*, the authors submit the results of various surveys carried out in the People's Republic of the Congo.

The analysis of the results has enabled them to compare the value of the classical parasitological screening with that of the immunological one. They have noted that conventional screening methods failed to spot out 80 p. 100 of cases.

The authors then raise the problem of control strategy in countries where the endemicity is high. In view of the lack of qualified personnel and adequate hospital facilities in these countries they recommend a systematic treatment of immunological suspects.

I. - INTRODUCTION

Les manifestations cliniques de la trypanosomiase humaine africaine sont bien connues et ont fait l'objet de nombreux ouvrages depuis le début de ce siècle. Cependant, la plupart des signes qu'on peut attribuer à cette maladie font également partie du tableau clinique d'autres affections, notamment celles d'origine parasitaire. C'est pourquoi, il a été admis jusqu'à présent que le seul diagnostic de certitude était la mise en évidence du trypanosome.

L'asymptotisme dans la trypanosomiase est un phénomène reconnu depuis fort longtemps et de nombreux exemples en sont donnés dans la littérature (in FREZIL et CARNEVALE, 1976). Les malades asymp-

tomatiques (porteurs sains, trypanotolérants) peuvent parfois être dépistés par la recherche parasitologique classique (goutte épaisse, triple centrifugation), mais très souvent il faut mettre en jeu des procédés sophistiqués, tels que la filtration sur DEAE cellulose, pour arriver à déceler le parasite.

Il est bien évident que cette technique, longue et onéreuse, ne peut être appliquée à toute la population d'un foyer (FREZIL et CARRIE, 1975). Donc, si l'on s'en tient aux méthodes classiques, on sait a priori qu'une certaine proportion de malades va échapper au dépistage.

Le pourcentage de ces malades asymptomatiques a fait l'objet de spéculations : WEINMAN (1963) estime que dans certains cas, la marge d'erreur est de 20 à 25 p. 100. SCOTT (in MULLIGAN, 1970) constate : "It is true that cases may be missed during surveys, perhaps by as much as 20 or 30 p. 100".

Depuis quelques années, le dépistage immunologique a fait d'importants progrès. Les tests les plus couramment pratiqués sont la recherche de l'hypermacroglobulinémie (DUTERTRE, 1967) et l'immunofluorescence indirecte (WERY et al., 1970).

La technique des IgM a permis d'améliorer considérablement la qualité du dépistage, mais elle manque de spécificité. En effet, on observe déjà 7 p. 100 de porteurs d'IgM augmentées dans une population africaine normale (CARRIE et al., 1969). Par contre, la technique d'immunofluorescence indirecte (I.F.I.) est nettement plus spécifique (FREZIL et COULM, 1975).

Dans le présent travail, nous analysons les résultats

(1) Parasitologiste - Maître de Recherches à l'O.R.S.T.O.M.

(2) Médecin-Chef de la Division Technique du Service de l'Epidémiologie et des Grandes Endémies.

(3) Médecin Statisticien.

Ce travail a bénéficié d'une subvention de l'O.M.S.

22 SEP. 1977 ex 1

O. R. S. T. O. M.

Collection de Références

8766 Ent. Med.

des différentes enquêtes réalisées en République Populaire du Congo à l'aide de l'immunofluorescence indirecte. Notre but est d'essayer de déterminer le pourcentage d'asymptomatiques qui passent au travers de la prospection classique et de savoir si l'on peut prendre le risque de traiter systématiquement tous les individus présentant une réaction positive en immunofluorescence (et que l'on dénommera "fluorescents" par la suite).

II. - MATERIELS ET METHODES

En République Populaire du Congo, le dépistage de la maladie du sommeil se fait de la façon suivante :

— Dans un premier temps, une équipe se rend sur le terrain et, parallèlement à la recherche clinique et parasitologique classique, prélève à toute la population un échantillon de sang sur papier filtre.

— Sitôt parvenus à Brazzaville, les échantillons sont testés en IFI selon la méthode de WERY et al. (1970), en utilisant comme antigène une souche congolaise de *Trypanosoma gambiense* (FREZIL et al., 1974).

— Dès que les résultats des tests sont connus, l'équipe retourne sur le terrain et évacue tous les "fluorescents", soit vers la capitale, soit vers le secteur des Grandes Endémies le plus proche. Le reste de la population est alors lomidinisé. Un dépistage classique complémentaire, avec prélèvement de sang sec est mené extemporanément sur les personnes absentes la première fois.

— Lorsque le foyer est particulièrement difficile d'accès, toute la population est lomidinisée dès la première enquête. Les positifs en IFI sont traités systématiquement par la suite.

III. - OBSERVATIONS

WERY et al. (*loc. cit.*) ont très largement contribué à donner une idée de la spécificité et de la fiabilité de la technique d'IFI. Toutefois, étant donné que nous n'utilisons pas le même antigène et que la lecture du test peut légèrement varier avec l'opérateur, il nous a semblé utile d'étudier à notre tour la valeur de la méthode.

OBSERVATION N° 1 — Nous avons testé en IFI plus de 200 trypanosomés confirmés parasitologiquement, avant traitement. Tous ces malades se sont avérés nettement positifs sauf 2 douteux au sérum à la dilution 1/20 et positifs au confetti. Par contre, dans les cas de rechute, la fluorescence du sérum est souvent très faible (FREZIL et al., 1976).

OBSERVATION N° 2 — Lors de l'examen en IFI des confettis prélevés dans les prospections de masse, nous avons toujours obtenu des tests positifs avec les trypanosomés dépistés sur le terrain, bien que les lectures des tests soient toujours faites "en aveugle".

OBSERVATION N° 3 — Sur 165 examens en IFI de 39 maladies diverses autres que la trypanosomiase, nous avons trouvé 7 cas douteux, mais aucun positif. Les résultats de cette étude figurent en annexe.

OBSERVATION N° 4 — Une enquête a été menée dans l'agglomération de Loutété, située à 7 km seulement du foyer de Kinzaba (FREZIL, 1973). Un seul IFI positif a été décelé sur 1.145 personnes testées, soit 0,08 p. 100. Encore faut-il admettre que ce suspect, qui n'a pas encore répondu à sa convocation, a toutes chances d'être effectivement malade.

OBSERVATION N° 5 — Le tableau I consigne les résultats obtenus dans 2 foyers où notre étude s'est déroulée dans des conditions particulièrement satisfaisantes, puisque nous avons pu revoir la presque totalité des "fluorescents".

OBSERVATION N° 6 — Dans le tableau II, nous comparons les résultats obtenus par la prospection classique et le dépistage immunologique dans les différents foyers que nous avons prospectés.

TABLEAU I

	Total testé	IFI +++	IFI +++ revus au contrôle	NT + dépistés sur le terrain	AT connus IFI +++	NT + dépistés grâce à l'IFI	NT + AR
MAKOTIMPOKO							
Juin 1974	805	26	24	10	1	12	23
COMBA							
Août et Nov. 1975	1.526	35	34	4	9	15	28
Total	2.331	61	58	14	10	27	51

TABLEAU II

	Total testé	A = IFI +++	B = AT IFI +++	A — B	NT + dépistés sur le terrain	% âge de NT + par rapport à (A — B)
MAKOTIMPOKO						
Juin 1974	805	26	1	25	10	40,0
COMBA						
Août et Nov. 1975	1.526	35	9	26	4	15,3
KIMONGO						
Mars 1974	2.174	21	0	21	3	14,2
MBOMO						
Novembre 1974	1.897	75	1	74	3	4,0
MOSSAKA						
Janvier 1975	1.521	20	0	20	1	5,0
LOUDIMA-JACOB						
Mars 1975	7.083	40	5	35	6	17,1
Environs de MOSSAKA						
Décembre 1975	1.092	15	3	12	3	25,0
Total	16.098	232	19	213	30	14,0

IV. - DISCUSSION

Les quatre premières observations donnent une idée très précise de la fidélité du test d'immunofluorescence indirecte :

— D'une part, pratiquement tous les trypanosomés avérés sont positifs. Les seuls fréquemment douteux sont les cas de rechute qui ne posent aucun problème de dépistage puisqu'ils sont déjà connus ou facile à reconnaître cliniquement.

— D'autre part, nous n'avons jamais observé de réaction croisée nettement positive avec toutes les autres maladies que nous avons testées.

— Enfin, les fausses positivités (éventuelles) ne sauraient excéder 1 p. 100. Ce pourcentage est particulièrement faible par rapport aux 7 p. 100 de faux positifs donnés par les IgM.

Le dépistage par immunofluorescence indirecte apparaît donc particulièrement fiable.

Ces quatre premières observations peuvent cependant être interprétées comme résultant de travaux de laboratoire ; encore faut-il étudier l'application de la technique d'IFI sur le terrain et essayer d'en tirer des considérations pratiques.

Le tableau I montre que sur 58 IFI positifs soumis au contrôle, 51, soit 87,9 p. 100 sont trypanosomés confirmés.

Avec un risque d'erreur de 5 p. 100, le pourcentage de trypanosomés réel se situe dans un intervalle de confiance compris entre 79,3 et 96,5 p. 100.

Du fait de la petite taille de l'échantillon, les conditions d'application de la formule de l'intervalle de confiance ne sont que partiellement réalisées ; mais la valeur est douteuse uniquement pour la limite supérieure. Autrement dit, il y a au moins 79,3 p. 100 de trypanosomés, la limite supérieure se situant, d'après les tables de MAINLAND, HERRERA et SUTCLIFFE, à 95-96 p. 100.

Ces chiffres, qui vont servir de support à la suite de notre raisonnement, sont en fait extrêmement pessimistes. En effet, par manque de place dans les services hospitaliers, les malades ne peuvent être gardés longtemps en observation ; or, d'après WERY et BURKE (1972), nous avons pu constater qu'il faut parfois suivre les suspects immunologiques plusieurs mois avant de mettre le parasite en évidence. Il faut donc retenir que le dépistage par IFI est nettement plus fiable que les chiffres ne l'indiquent, mais que, pour plus de rigueur scientifique, nous nous plaçons volontairement dans les plus mauvaises conditions. Donc, nous admettons que dans une population d'IFI positifs sur le terrain, il y a au moins 79,3 p. 100 de trypanosomés.

L'examen du tableau II montre que sur 16.098 personnes testées, il y a 232 IFI positifs. Il faut retrancher les 19 anciens trypanosomés fluorescents qui ne présentent aucun intérêt puisqu'ils sont connus ; ce qui donne 213 positifs à étudier.

D'après les résultats de l'analyse du tableau I, on peut estimer qu'il y a entre 168 et 202 trypanosomés dans ces 213 positifs. Sur le terrain, le dépistage classique ne décele que 30 sommeilleux soit de

14,9 p. 100 à 17,9 p. 100 du nombre réel des malades.

Par conséquent, dans le meilleur des cas, seulement 18 p. 100 des trypanosomés sont diagnostiqués sur le terrain par le dépistage classique.

En admettant que :

— tous les IFI positifs ne sont pas trypanosomés. D'après les résultats obtenus avec le tableau I, les non trypanosomés IFI positifs varient entre 5 et 21 p. 100 ;

— le traitement par l'Arsobal entraîne une létalité de 5 p. 100.

On peut essayer de calculer le risque pris en traitant tous les IFI positifs.

Parmi les 213 IFI positifs traités par l'Arsobal, la létalité serait de 11 personnes. Sur ces 11 décès, combien pourraient être attribués à des non trypanosomés injustement traités ?

Le nombre de personnes traitées sans raison varie entre 11 et 45 et le nombre de décès parmi ces personnes serait de 2 au maximum.

Le risque de traiter un non trypanosomé étant compris entre 5 p. 100 et 21 p. 100, si l'on traite systématiquement tous les "fluorescents", le risque de décéder pour un non trypanosomé traité est situé entre 0,003 et 0,01.

En considérant ce risque maximum par rapport à la population entière des foyers prospectés qui est de 16.098 personnes, le taux de mortalité spécifique par traitement injustifié à l'Arsobal" n'est que de 0,01 p. 100 (1 pour 10.000).

Les constatations précédentes nous conduisent à discuter de la stratégie à appliquer dans les zones à maladie du sommeil.

Il est bien évident que la méthode idéale consiste à rechercher le parasite sur tous les suspects IFI, en n'étant pas limité par le temps et en ayant recours aux techniques parasitologiques les plus élaborées.

De fait, ce n'est pas réalisable en pratique ! En effet, il est quasiment impossible de ramener dans la capitale les quelques dizaines de suspects immunologiques de chaque enquête, pour les placer en observation.

D'autre part, les Secteurs des Endémies et les dispensaires de l'intérieur n'ont souvent pas les moyens, tant en personnel qu'en matériel, de procéder à des recherches parasitologiques "fines".

On se trouve donc en face du dilemme déontologique suivant : les suspects immunologiques doivent-ils ou non être traités. En d'autres termes, peut-on mettre en balance de laisser échapper 80 p. 100 de trypanosomés qui vont disséminer leur maladie ou bien prendre le risque de voir décéder un certain

nombre de personnes *peut-être* indemnes. Rappelons que dans l'ensemble des foyers que nous avons étudiés, le taux de mortalité spécifique par traitement injustifié ne saurait excéder 1 pour 10.000.

Deux exemples tirés de notre expérience personnelle méritent réflexion :

— Pendant la prospection du foyer de Mbomo (FREZIL et COULM, 1975), nous étions persuadés d'être sortis de la zone à trypanosomiase dans le village de Lebango. Toutes les personnes présentes ne montraient aucun signe de maladie et se déclaraient en bonne santé. Une dizaine de ponctions ganglionnaires ont toutes été négatives. A notre retour à Brazzaville, nous avons eu la surprise de constater que sur 105 personnes visitées, 35 étaient positives en IFI.

La plupart de ces personnes ont été traitées au Secteur de Makoua après qu'on ait trouvé le parasite sur bon nombre d'entre elles. Trois de ces IFI positifs non traités se sont spontanément présentés au Service des Grandes Endémies de Brazzaville un an après l'enquête. Tous les 3 étaient parasitologiquement positifs et encore en première période.

— Après une enquête effectuée dans le foyer de Loudima, en 1975, les sujets IFI positifs ont été dirigés sur le Secteur de Loubomo pour traitement. Par crainte de la toxicité de l'Arsobal, les responsables de ce secteur n'ont pas traité deux enfants qui ne présentaient aucun signe de maladie : 4 mois après, ces deux enfants revenaient en deuxième période.

V. - CONCLUSION

Etant donné que le traitement des suspects immunologiques avait déjà été accepté avec les IgM, test pourtant nettement moins spécifique, il n'existe à notre sens, aucune raison valable de ne pas traiter les sujets fluorescents.

En fait, cette stratégie est appliquée en République Populaire du Congo depuis bientôt deux ans ; tous les IFI positifs chez qui le trypanosome n'est pas décelé subissent une série de trois injections d'Arsobal. Ceux qui montrent une perturbation albuminocytologique du LCR sont traités comme trypanosomés en deuxième période.

Pour le moment, nous avons été heureux dans ce choix, car aucun individu uniquement positif en fluorescence n'est encore décédé ; ce qui est d'ailleurs parfaitement logique, puisque la majorité d'entre eux sont en excellente santé apparente, et donc, supportent bien le traitement.

Cette stratégie peut, bien sûr, être adaptée en fonction de l'incidence de la trypanosomiase dans chaque zone, mais dans les pays d'Afrique centrale, où cette maladie montre actuellement une recrudescence alarmante, c'est à notre avis le seul moyen de lutter avec quelques chances de succès.

ANNEXE

LISTE DES AFFECTIONS AUTRES QUE LA TRYPANOSOMIASE TESTÉES EN IFI

Maladie de Hodgkin : 1; leucémie myeloïde : 2; leucémie lymphoïde : 3; cancer du foie : 5; cirrhose du foie : 2; hépatite virale : 8 (dont 2 douteux); ulcère gastroduodénal : 2; ascite : 1; glomerulonéphrite : 1; néphrose lipoïque : 7; diabète : 10; gastroentérite : 1; amibiase : 3; dysenterie bacillaire : 3; gonococcie : 2; syphilis : 1; péricardite virale : 1; péricardite tuberculeuse : 1; péricardite constrictive : 1; insuffisance cardiaque : 1 (douteux); hypertension : 5; thrombophlébite : 1; R.A.A. : 1; polyarthrite : 1;

myxoedème : 1; goitre : 1 (douteux); pneumopathie aiguë : 2; pneumococcie : 1 (douteux); bronchite : 1; tuberculose : 39 (dont 1 douteux); psychopathies diverses : 14; purpura streptococcique : 1; rougeole : 15; coqueluche : 1; aplasie médullaire : 2; maladie de Recklinghausen : 1; lèpre lépromateuse : 7 (dont 1 douteux); accès palustres : 3; drépanocytose : 12.

Total testé : 165 :

Positifs en IFI	0
Douteux en IFI	7
Négatifs en IFI	158

RÉSUMÉ

D'après les résultats des différentes enquêtes sur la trypanosomiase humaine en République Populaire du Congo, les auteurs constatent que le dépistage classique laisse échapper 80 p. 100 des malades.

Après avoir étudié les risques de traitement des sujets uniquement positifs en immunofluorescence, les auteurs préconisent le traitement systématique des suspects immunologiques dans les pays à forte endémicité.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — CARRIE J., LAFLAQUIÈRE F. et RIVE J. — Intérêt d'une méthode simplifiée d'immuno sélection des suspects dans le dépistage de la trypanosomiase humaine à *Trypanosoma gambiense*. Principe - Résultats - Limites — *Rapp. fin. 9^e Conf. techn. O.C.C.G.E.*, 1969, 495-501.
- 2 — DUTERTRE J. — Notice d'emploi du "Compendium Bêta 2M" à l'usage des profanes — *Rapp. fin. 7^e Conf. techn. O.C.C.G.E.*, 1967, 630-646.
- 3 — FREZIL J.-L. — Etude de la transmission de la trypanosomiase humaine africaine dans le foyer de Loutété-Kinzaba — *Rapp. ronéot. O.R.S.T.O.M.-Brazzaville*. 140/73/JLF, 1973, 12 pages.
- 4 — FREZIL J.-L. et CARNEVALE P. — Le problème du réservoir de virus et du maintien des foyers de trypanosomiase humaine en Afrique centrale. Sous presse dans les *Cahiers O.R.S.T.O.M. Série Ent. Méd. Parasitol.*, 1976.
- 5 — FREZIL J.-L. et CARRIE J. — Quelques observations sur le diagnostic parasitologique et immunologique de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* — *I.S.C.T.R. Addis-Abeba, Dakar*, 1975.
- 6 — FREZIL 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* — *Cahiers O.R.S.T.O.M., Série Ent. Méd. Parasitol.*, XII (2), 1974, 111-126.
- 7 — FREZIL J.-L. et COULM J. — Apport de l'immunofluorescence indirecte dans le dépistage et le contrôle de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* — *Rapp. fin. 10^e Conf. techn. O.C.E.A.C. Yaoundé*, 1975, 160-173.
- 8 — FREZIL J.-L., COULM J., LOUEMBET M.-T. et ALARY J. — La réaction d'immunofluorescence indirecte dans la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* — I. - Etude de l'antigène et examen de 200 malades avant traitement (sous presse), 1977.
- 9 — MULLIGAN H.-W. — The African Trypanosomiasis — *G. Allen and Unwin*, 1970.
- 10 — WEINMAN D. — Problems of diagnosis of trypanosomiasis — *O.M.S. Bull.*, 1963, 28, 731.
- 11 — WERY M. et BURKE J. — Humans "healthy carriers" of *Trypanosoma (brucei* type) discovered by immunofluorescence test in the République Démocratique du Congo — *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 1972, 66, 2, 332-333.
- 12 — WERY M., WERY-PASKOFF S., VAN WETTERE P. — The diagnosis of human African trypanosomiasis (*Trypanosoma gambiense*) by the usage of fluorescent antibody test. I. Standardisation of an easy technique to be used in mass surveys — *Ann. Soc. Belge, Méd. Trop.*, 1970, 50, 5, 613-634.