

SERVICE D'ENTOMOLOGIE MEDICALE
ET PARASITOLOGIE

CENTRE ORSTOM DE BRAZZAVILLE

B.P. 181

REPUBLIQUE POPULAIRE DU CONGO

N° 147/73/JLF.

QUELQUES OBSERVATIONS SUR LE DIAGNOSTIC PARASITOLOGIQUE ET

IMMUNOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMIASE A T. gambiense

par

J.L. FREZIL (x) et J. CARRIE (xx)

(x)- Chargé de Recherches de l'ORSTOM

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

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 28933, ex 1

Cote : B

I/- INTRODUCTION

Depuis que la maladie du sommeil est connue, on considère que seule la mise en évidence du trypanosome constitue un diagnostic certain de l'affection.

Quelquefois, il est aisé de déceler le parasite par simple observation directe des liquides biologiques (lymphe, sang, LCR), mais souvent il faut recourir à des méthodes d'enrichissement telles que les centrifugations (LCR, sang) ou la filtration sur cellulose. On peut également procéder à des inoculations d'animaux sensibles, au xénodiagnostic ou à la culture.

Classiquement, tous ces examens sont pratiqués sur des sujets présentant des manifestations cliniques pouvant se rapporter à la trypanosomiase.

Cependant, depuis quelques années, on s'est avisé que par le dépistage clinique et parasitologique habituel, on laissait échapper bon nombre de sujets sans troubles apparents et avec un taux de parasitémie variable.

Aussi s'est-t-on orienté vers des procédés indirects immunologiques tels que la recherche de l'hypermacroglobulinémie et l'immunofluorescence indirecte. Nous avons utilisé toutes ces techniques et allons essayer d'en dégager la valeur respective.

II/- LES IGM

Les Igm ont été utilisées pour le dépistage de masse à partir de 1962 au Sénégal et en Haute-Volta (MATTERN, PERETTI et BENZ).

Cette technique a été à la mode dans les années 1962-1965. Par la suite, elle a fait couler beaucoup d'encre mais, en fait, elle a été assez peu utilisée dans les enquêtes de masse ; peut-être à cause de son manque de spécificité. Nous l'avons personnellement essayée au Congo dans les foyers de Loudima, Mpouya, Kinzaba et Kimongo (REY et FÉZIL, 1972).

Nous avons testé 12524 confettis provenant de ces 4 foyers :

- 51 trypanosomés ont été dépistés par l'enquête classique,
- 31 trypanosomés ont été dépistés grâce aux Igm

et 56 malades présentant des troubles cliniques, imputables à la trypan-

nosomiase, associés à une altération albuminocytologique, ont été retenus, sans que le trypanosome soit toutefois mis en évidence.

Sans le secours des IgM nous aurions donc laissé échapper plus de la moitié des trypanosomés. Il paraît évident que, si cette méthode reste criticable sur le plan individuel, elle n'en demeure pas moins très intéressante dans la médecine de masse en raison de sa simplicité et mérite une place plus grande que celle qu'elle occupe actuellement.

III/- IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE

Nous avons tenté de préciser la valeur de l'immunofluorescence indirecte en la comparant à la recherche des IgM, avec le concours de la filtration sur cellulose.

Nous avons employé la technique décrite par WERY et al., (1970). Cependant nous avons utilisé comme antigène une souche de Trypanosoma gambiense provenant de Loudima et le sérum fluorescent de l'Institut Pasteur a été dilué au 1/200.

Pour notre premier essai de dépistage par immunofluorescence, nous avons choisi le foyer de Kinzaba situé près de Loutété. Ce foyer résurgent a été le siège d'une flambée épidémique en 1971, où 85 nouveaux cas ont été dépistés. A la suite du traitement des malades, une lomidinisation générale de la population a été effectuée.

Notre enquête s'est donc située dans le cadre très particulier d'un foyer longuement inventorié et remanié par la lomidinisation.

Nous ne pouvons donner ici tout le détail de nos travaux, qui vont être prochainement publiés, et nous contenterons d'un résumé.

Le foyer de Kinzaba comprend 7 villages que l'on peut diviser en 2 groupes : le premier (1107 habitants) recense la quasi totalité des anciens trypanosomés. Le deuxième (466 habitants) n'a fourni qu'un seul trypanosomé en 2 ans.

III-1- Examens sur sang sec

Le tableau I consigne, pour chaque groupe de hameaux, les résultats des 2 examens biologiques pratiqués sur prélèvements secs : recherche de l'augmentation des IgM et Immunofluorescence indirecte qui ont donné au total 115 IgM positifs, 42 IFI +++ et 21 sujets positifs aux 2 examens.

TABLEAU I

	Visités	IFI +++	IFI +++	Pourcentage	Pourcentage
		IgM -	IgM +	IFI +++	IgM -
Groupe 1:	849	19	21	4,7 %	10,6 %
Groupe 2:	369	2	0	0,5 %	6,7 %

Une étude rapide montre que les pourcentages de tests positifs sont pour les 2 examens, nettement plus élevés dans le groupe des hameaux contaminés.

Nous avons analysé, dans les 2 groupes, les résultats des tests IgM et IFI en fonction du sexe et des tranches d'âge. Nous avons pu ainsi retrouver l'augmentation habituelle du pourcentage des IgM en fonction de l'âge et une plus grande fréquence chez la femme adulte. Ces variations ne sont pas rencontrées pour le test d'immunofluorescence dont la positivité se répartit de façon assez homogène sur les différentes tranches d'âge et les sexes dans le groupe de hameaux contaminés.

III-2- Examen des sérums et LCR.

Au cours de l'enquête de contrôle, nous avons recueilli et testé 213 sérums et 210 LCR sur les suspects cliniques et immunologiques.

Le titrage des sérums permet d'éliminer la possibilité de confusion entre les personnes examinées et, peut être, préciser si la maladie est en évolution. La recherche de l'immunofluorescence dans le LCR est bien plus intéressante puisqu'on admet que la positivité de ce test est un signe certain de Trypanosomiase (LUCASSE, 1964).

Ainsi dans les 9 tests IFI positifs dans le LCR, nous avons trouvé :

- 3 trypanosomés (T.+)
- 2 AT. dont un en rechute
- 2 suspects cliniques en rechute caractérisée
- 2 nouveaux suspects cliniques.

Le titrage de l'IgM sérique ne nous ayant apporté aucune information nouvelle, nous nous bornerons à indiquer que la présence de l'IgM n'a été mise en évidence que pour 3 LCR concentrés, qui correspondent d'ailleurs à des tests IFI fortement positifs.

III-3- Valeur et limite de l'immunofluorescence indirecte

Les 1218 tests d'immunofluorescence ont sélectionné 42 suspects, parmi ceux-ci, on compte 17 malades sur les 18 retenus à l'issue de l'ensemble des examens biologiques et cliniques.

Ces 18 malades se répartissent ainsi :

- 9 nouveaux trypanosomés
- 4 nouveaux suspects (2 à LCR nettement altéré
(1 altération discrète
(1 LCR normal.
- 3 anciens trypanosomés (2 LCR altérés dont 1 T.+
(1 LCR limite
- 2 suspects cliniques, rechutes manifestes.

Le malade qui a échappé au dépistage par IFI est un ancien trypanosomé de 10 ans sans hypermacrogluobulinémie dans le sang, mais présentant cette protéine dans le LCR. La recherche de l'IFI sur sang sec et sérum a donné des résultats douteux. Par contre le LCR est IFI positif (++) , avec présence de trypanosomes. Ce malade en rechute est dans un état grabataire et léthargique.

Le fait que cet enfant ne présente pas d'anticorps sériques ne nous surprend pas ; en effet, nous avons souvent constaté un taux d'IgM normal dans le sérum au cours des rechutes et tout particulièrement à la période terminale.

III-4- L'index d'immunofluorescence

Outre les examens pratiqués dans le foyer proprement dit, nous avons testé 369 confettis provenant des ouvriers de la Cimenterie de Loutété.

Ce qui nous donne le tableau suivant :

TABLEAU II

	: Trypano. :	I.C.T. :	Population :	Tests :	Index IFI :
	: recensés :	actuel :	visitée :	IFI :	Tests + X 100 :
	: AT + NT :			: positifs :	visités :
Population contaminée (849)	: 76	: 6,8	: 849	: 40	: 4,7
Population indemne (738)	:	:	:	:	:
des hameaux	: 1	: 0,2	: 369	: 2	: 0,5
de la Cimenterie:	:	:	: 369	: 2	: 0,5

Sur 738 personnes présumées indemnes et chez lesquelles le pourcentage IgM est de 4,3 (chiffre que l'on retrouve dans les populations africaines non contaminées par la trypanosomiase), on relève 4 tests IFI positifs sur sang sec. Par contre, les index trouvés sur la population contaminée se distinguent nettement avec un pourcentage IgM qui s'élève à 10,6 et un taux IFI de 4,7.

Nous pouvons donc admettre provisoirement, sans pour autant nous dispenser de contrôle, qu'au maximum 1 personne sur 200 puisse présenter un test positif. Ces observations confirment que l'immunofluorescence est beaucoup plus sélective que la recherche de l'hypermacroglobulinémie.

L'index IFI paraissant étroitement lié à la contamination par trypanosomiase pourrait être utilisé dans la surveillance épidémiologique de cette maladie.

V/- FILTRATION SUR CELLULOSE

La filtration sur cellulose (LANHAM et al., 1971) nous ayant donné d'excellents résultats à Brazzaville nous avons décidé de l'utiliser sur le terrain, au cours de la prospection de masse de Kinzaba.

Puisque nous voulions déterminer les limites des examens immunologiques, ces filtrations ont non seulement porté sur le sang de 31 sujets dont les tests IFI étaient fortement positifs, mais aussi sur 41 douteux et 20 sujets présentant une augmentation isolée des IgM ou des signes cliniques évocateurs.

Comme 11 examens ont été renouvelés à 15 jours d'intervalle, 103 filtrations au total ont été réalisées en 2 semaines.

Cette technique d'enrichissement a permis à elle seule de porter 4 fois le diagnostic de trypanosomiase, dont une fois après que l'examen eut été renouvelé. Encore faut-il préciser que dans ce dernier cas, nous n'avons vu qu'un seul trypanosome dans le culot.

La filtration sur cellulose demande beaucoup de soins pour sa préparation et comme nous examinons le culot à frais, on ne peut en réaliser plus qu'on ne possède de microscopistes expérimentés. Ainsi nous n'avons pu effectuer que 12 filtrations par jour (soit 4 séries de 3) en prélevant 10 cc de sang sur les malades.

Cette technique onéreuse et lente ne peut donc être employée que sur des individus déjà soigneusement sélectionnés par les tests immunologiques ou les examens cliniques.

VI/- INOCULATION D'ANIMAUX SENSIBLES

Dans une récente note (FREZIL, 1973) nous avons constaté que, en République Populaire du Congo, les isollements de souches de trypanosomes sur rats sont relativement aisées. En effet, sur 16 tentatives, 9 étaient entièrement couronnées de succès (c'est-à-dire tous les rats infectés) 2 partiellement et 5 négatives. Nous avons noté d'autre part que les passages effectués à partir de malades en bon état général, c'est-à-dire, avec des souches fraîches, réussissaient plus volontiers que ceux de malades en 2ème période.

Nous avons retrouvé le même résultat à Kinzaba où sur 7 tentatives, 5 faites avec des malades en bon état général ont réussi.

Cependant le fait que l'on enregistre des échecs même lorsque le parasite est visible dans le sang, et que l'on obtienne de mauvais résultats en 2ème période (où justement le parasite est difficile à déceler) confirme, dans notre esprit, le peu de rentabilité du diagnostic par inoculation de rongeurs de laboratoire.

VII/- LE XENODIAGNOSTIC

Depuis la mise au point de la filtration sur cellulose, le xénodiagnostic ne présente plus, à notre avis, qu'un intérêt limité sur le plan du dépistage.

En fait l'avantage de cette expérimentation est de montrer (FREZIL, 1971) que des suspects immunologiques, où l'on n'a pu mettre le trypanosome en évidence, sont susceptibles d'infecter des glossines et d'assurer le maintien de la maladie dans les foyers où l'on se sera contenté d'une prospection classique.

CONCLUSION

Il semble que l'une des raisons essentielles de l'échec du contrôle de la Trypanosomiase humaine africaine soit l'insuffisance du dépistage classique.

En effet ce dépistage laisse échapper bon nombre de malades apparemment bien portants mais susceptibles d'infecter les glossines.

Donc toute enquête portant sur un foyer devrait être doublée d'une enquête immunologique comportant la recherche de l'immunofluorescence et de l'hypermacroglobulinémie.

Cette enquête immunologique pourrait être suivie d'un dépistage parasitologique par filtration sur cellulose, ou du traitement systématique des suspects retenus.

La prospection humaine devrait être accompagnée d'une enquête entomologique, suivie d'une campagne d'éradication des glossines.

Malgré ses difficultés prévisibles d'application, un tel protocole garantirait des résultats satisfaisants et rapides.

B I B L I O G R A P H I E

- FREZIL (J.L.), 1971.- Application du xénodiagnostic dans le dépistage de la Trypanosomiase à Trypanosoma gambiense chez des sujets immunologiquement suspects.
Bull. Soc. Path. Exo., 64, (6), 871-878.
- FREZIL (J.L.), 1973.- Isolement de souches de Trypanosoma brucei gambiense en République Populaire du Congo. Conséquences pratiques et Considérations épidémiologiques.
Cahiers ORSTOM. Ent.méd. Para. (Sous presse).
- GODFREY (D.G.) et LANHAM (S.M.), 1971.- Diagnosis of Gambian Trypanosomiasis in man by isolating Trypanosomes from blood passed through DEAE-cellulose.
Bull. O.M.S., 45, 13-19.
- LUCASSE (Ch.), 1964.- Fluorescent antibody test as applied to cerebrospinal fluid in human sleeping sickness.
Bull. Soc. Path. Exo., 57, (2), 283-292
- REY (J.L.) et FREZIL (J.L.), 1972.- Résultats de la recherche des IgM sériques appliquée au dépistage de la Trypanosomiase en République Populaire du Congo.
Conférence Technique OCEAC, Paris, mai 1972.
- WERY (M.), WERY-PASKOFF (S.), VAN WETTERE (P.), 1970.- 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 Med. trop., 50, (5), 613-34.
- WERY (M.), VAN WETTERE (P.), WERY-PASKOFF (S.), VAN MEIRVENNE (N.) et MESATEWA (M.), 1970.- The diagnosis of human African Trypanosomiasis (T. gambiense) by the use of the fluorescent antibody test.
2. First result of field application.
Ann. Soc. belge Méd. trop., 50, (6), 711-730.