

LE PROBLEME DE L'INTERPRETATION DU CATT
DANS LE DEPISTAGE DE LA TRYPANOSOMIASIE HUMAINE
A *TRYPANOSOMA BRUCEI* GAMBIENSE

par

L. PENCHENIER¹, J. JANNIN², J.P. MOULIA-PELAT³,
F. ELFASSI DE LA BAUME⁴, G. FADAT⁵, B. CHANFREAU⁶ & P. EOZENOU⁷

¹Laboratoire d'Epidémiologie des Grandes Endémies Tropicales,
Centre ORSTOM, B.P. 181, Brazzaville, République Populaire du Congo

²Programme National de Lutte contre la Trypanosomiasie, Brazzaville, Congo

³Laboratoire National de Santé Publique, Brazzaville, Congo

⁴E.N.S., Brazzaville, Congo

⁵OCEAC, Yaoundé, Cameroun

⁶Centre Inter Etats d'Enseignement Supérieur de Santé, Brazzaville, Congo

⁷Service de l'Epidémiologie et des Grandes Endémies,
Direction de la Médecine Préventive, Brazzaville, Congo

Résumé — Le dépistage de masse de la trypanosomiasie humaine africaine à *Trypanosoma brucei gambiense* (T.g.) se fait classiquement par un Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) en série (CATT sur sang total suivi d'un CATT sur sérum en cas de positivité du premier test) et la recherche de trypanosomes dans les adénopathies. Actuellement, les sujets chez lesquels le trypanosome a été mis en évidence (dans le sang ou le suc ganglionnaire) sont traités, ainsi que les doubles positifs (en CATT sang et en CATT sérum).

L'existence de malades dont la ponction ganglionnaire s'est révélée positive, alors que le CATT sur sang total était négatif, a amené les auteurs à pratiquer une enquête par CATT en parallèle (CATT sur sang et sur sérum) portant sur 2.030 personnes dans le foyer de Boko Songho (Congo - région de la Bouenza). Alors que la prévalence des positifs au CATT sang et au CATT sérum (CATT en série) est de 6,8%, la prévalence des positifs à l'un au moins des deux CATT (CATT en parallèle) est de 19%.

Les 12,2% de résultats discordants (sang+/sérum- ou sang-/sérum+) ont été revus un mois plus tard en CATT et en Immuno-Fluorescence Indirecte (IFI). Parmi ceux-ci, 22,3% se sont positivés au sang et au sérum, alors que 30,6% se sont négativés. Ce dernier groupe posant le problème des réactions croisées, les auteurs ont pratiqué une IFI avec *Trypanosoma congolense* (T.c.) comme antigène sur un échantillon de 18 personnes présentant un CATT discordant. Toutes les IFI faites avec T.c. ont été positives au seuil de 1/50^e alors que certains

La recherche systématique d'adénopathies nous a permis de constater que pour près de 14 % des malades chez qui le trypanosome a été trouvé à la ponction ganglionnaire, le CATT sang (CATT Sg.) était négatif. Le CATT sérum (CATT Sr.), quant à lui, quoique le plus souvent positif, pouvait être également négatif.

Cette constatation nous a incité, lors d'une prospection à Boko Songho dans la Bouenza (Congo), à pratiquer en parallèle le CATT Sg. et le CATT Sr.

La forte proportion de discordance entre les deux CATT nous a conduits à reprendre, un mois plus tard, au CATT Sg. et Sr., mais aussi en Immuno-Fluorescence Indirecte (IFI), l'ensemble des individus discordants, puisque l'IFI est considérée comme le test de référence (2).

L'analyse comparative des résultats obtenus nous a amenés à remettre en cause le schéma classique du dépistage par le CATT en série et à nous interroger sur les raisons des discordances observées entre CATT Sg. et CATT Sr.

II. Matériel et méthode

Le village de Boko Songho est situé entre Brazzaville et Pointe Noire, dans la région de la Bouenza qui est actuellement le principal foyer de trypanosomiase humaine au Congo.

Nous y avons effectué deux enquêtes à un mois d'intervalle. La première enquête ($J_{(0)}$) a porté sur l'ensemble de la population présente (2.030 personnes) alors que la deuxième ($J_{(30)}$) n'a porté que sur les personnes qui étaient positives au CATT Sg. ou Sr. à $J_{(0)}$. Afin d'éviter les biais liés à la lecture des CATT, à la recherche de parasites, nous avons réalisé les deux enquêtes avec les mêmes personnes aux mêmes postes et avec un même lot de CATT (89A).

A $J_{(0)}$, pour chaque individu, nous avons effectué un prélèvement de sang à la pulpe du doigt sur deux tubes à hématocrite. Avec ces tubes, nous avons effectué un CATT Sg. et un CATT Sr. lus par deux médecins. Pour chaque personne positive à l'un au moins des deux CATT, nous avons recherché les trypanosomes dans le sang par CTC. Enfin, tous les ganglions palpables ont été ponctionnés pour recherche de trypanosomes dans le suc ganglionnaire.

A $J_{(30)}$, lors de la deuxième enquête, seuls les individus ayant présenté des résultats discordants au CATT ont été revus, exception faite de ceux chez qui le parasite avait été mis en évidence ou des suspects biologiques (individus positifs aux CATT Sg. et Sr.) qui ont été écartés et traités. Le protocole a été plus complet qu'à $J_{(0)}$:

- les CATT ont été lus en double aveugle par deux personnes entraînées;
- la CTC a été réalisée, quel que soit le résultat du CATT;
- la lecture microscopique des CTC et des sucs ganglionnaires, longue et minutieuse, a été faite par des microscopistes entraînés;
- chaque individu a été ponctionné au pli du coude afin de pouvoir titrer le CATT à Brazzaville et de compléter le bilan immunologique par une

IFI. Les IFI (dont l'antigène *T.b. gambiense* (*T.g.*) lyophilisé provient d'Anvers) ont été réalisées aux dilutions 1/50^e, 1/100^e et 1/200^e, le seuil retenu étant le 1/100^e.

La négativation à $J_{(30)}$ de certains résultats de $J_{(0)}$ pouvant s'expliquer par un contact avec des trypanosomes d'animaux, nous avons utilisé, dans un deuxième temps, *Trypanosoma congolense* (*T.c.*) isolé d'un porc de Boko Songho comme antigène en IFI. Etant limité en antigène à 18 tests, nous avons choisi arbitrairement un échantillon de 18 sérums de façon à avoir un éventail de combinaisons de résultats au CATT Sg. et Sr. (+/+, +/-, -/+, -/-) et en IFI (- et +). De plus, à Brazzaville, nous avons entrepris une expérimentation sur rats afin de suivre avec le CATT la réponse immunitaire de rats inoculés avec *T.c.* Nous avons pris quatre groupes de rats:

- un groupe inoculé récemment avec une souche de *T.c.* de Boko Songho;
- un groupe inoculé quatre mois avant par une souche de *T.c.* de Boko Songho et présentant toujours une parasitémie;
- un groupe inoculé huit mois avant par une souche de *T.g.* de Boko Songho et présentant toujours une parasitémie;
- un groupe témoin n'ayant jamais été en contact avec des trypanosomes.

Une fois par semaine, pendant deux mois et demi, nous avons effectué un CATT Sg. et un CATT Sr. sur chaque rat ainsi qu'une recherche de trypanosomes dans le sang.

III. Résultats

Les résultats de $J_{(0)}$ sont regroupés dans le tableau 1. Nous avons vu 2.030 personnes. On constate que 6,8 % (138/2.030) des résultats sont copositifs (positifs au CATT Sg. et au CATT Sr.) et 12,2 % (248/2.030) sont discordants (-/+ ou +/-). C'est-à-dire que 19 % (386/2.030) de la population générale est positive à l'un au moins des deux CATT!

TABLEAU 1
Répartition des résultats CATT Sg./CATT Sr. à $J_{(0)}$

CATT Sg. /	CATT Sr.	Nombre	GG+	T+	Dont PGG+	T+ (%)
+	+	138	31	59	19	42,8%
+	-	24	4	7	3	29,2%
-	+	224	17	7	1	3,1%
-	-	1.644	51	-	-	-

GG+ : Porteurs d'adénopathies.
PGG+ : Ponction ganglionnaire positive (T+).
T+ : Patients parasitologiquement positifs.

A $J_{(30)}$, parmi les 248 discordants de $J_{(0)}$, nous avons écarté les trypanosomés (T+), soit 14 personnes. Des 234 individus discordants restants, 193 se sont présentés (Tableau 2). Près d'un tiers (30,6 % - 59/193) des résultats discordants sont devenus négatifs au sang et au sérum, tandis que près d'un quart (22,3 % - 43/193) sont devenus positifs au sang et au sérum. Tout le

problème réside dans l'interprétation de ces résultats car, en pratique, tous les copositifs aux CATT Sg. et Sr. sont considérés comme suspects biologiques si aucun trypanosome n'a pu être mis en évidence, et traités par pentamidine ou mélarosprol, selon le résultat du diagnostic de phase par l'examen du liquide céphalorachidien.

TABLEAU 2
Evolution à J₍₃₀₎ des résultats discordants de J₍₀₎
pour les 193 personnes revues chez lesquelles aucun trypanosome n'avait été mis en évidence

CATT J ₍₀₎		CATT J ₍₃₀₎			IFI J ₍₃₀₎				
Sg./Sr.	Nb	Sg./Sr.	Nb	(T+)	0	1/50	1/100	1/200	> 1/200
+/-	12	+/+	9	(2)	0	0	2	3	4
		+/-	0	(-)	—	—	—	—	—
		-/+	2	(0)	0	0	1	0	1
		-/-	1	(0)	0	1	0	0	0
-/+	181	+/+	34	(0)	0	13	4	9	0
		+/-	0	(-)	—	—	—	—	—
		-/+	78	(2)	24	17	23	2	3
		-/+	11	(0)	5	0	4	0	0
		-/-	58	(1)	15	20	11	4	0

Sg.: sang; Sr.: sérum; Nb: nombre.
± résultats douteux.

41 discordants n'ont pas été revus et 27 IFI n'ont pas été faites.
Les cinq T+ ont un titre en IFI \geq 1/100°.

166 des 193 sérums prélevés à J₍₃₀₎ ont été titrés en CATT Sr. Le tableau 3 des résultats en IFI et en CATT Sr. montre que la concordance entre les deux est médiocre. Ainsi, 57 % (95/166) des sérums positifs au CATT ont un titre inférieur au 1/100° en IFI. Même à une dilution \geq 1/4 au CATT, il y a des titres inférieurs au 1/100°. Inversement, il y a un trypanosomé parasitologiquement prouvé, positif en IFI et négatif aux CATT Sg. et Sr.

TABLEAU 3
Concordance des titres IFI et CATT sérum sur les 166 patients
revus à J₍₃₀₎

Titres des IFI	Titres des CATT sérum		
	1/1	1/2	\geq 1/4
0	37	7	0
1/50	36	13	2
1/100	33	9	3
> 1/100	8	9	9

Les résultats obtenus sur les 18 sérums testés avec *T.c.* (Tableau 4) montrent que tous les sérums ont un titre \geq au 1/50° dont 13 \geq au 1/100°

TABLEAU 4
Résultats comparatifs de 18 IFI à antigènes *T. gambiense* et *T. congolense*

Antigènes <i>T. congolense</i>	Antigènes <i>T. gambiense</i>			
	IFI	0	1/50	\geq 1/100
1/50	3	1	1	
\geq 1/100	0	5	8	

Pour ce qui est de l'expérimentation sur rats, au bout de dix semaines tous les témoins sont restés négatifs et tous les rats inoculés avec *T.g.* sont demeurés fortement positifs. Le groupe inoculé récemment avec *T.c.* est resté négatif pendant six semaines puis a donné des résultats anarchiques (un même rat pouvant devenir Sg.+ /Sr.-, puis Sg.- /Sr+, puis Sg.+ /Sr.+ ou Sg.- /Sr.- ...). Le groupe anciennement inoculé avec *T.c.* est resté négatif (expérimentation en cours, non publiée).

IV. Discussion

La possibilité de biais porte principalement sur l'interprétation des CATT. La méthodologie suivie (double lecture et mêmes personnes aux mêmes postes pour les deux enquêtes, lecture en double aveugle pour la deuxième enquête, même lot pour tous les CATT...) a permis d'en limiter les risques.

Choix de l'entrée dans la chaîne diagnostique

Le dépistage de masse de la THA a pour objectif d'identifier tous les malades afin de les traiter mais aussi afin de limiter au maximum les possibilités de transmission de la maladie par la suppression du maillon humain. Cela implique de disposer d'un outil diagnostique le plus sensible possible et facilement utilisable sur le terrain. Le CATT est, actuellement, le meilleur outil diagnostique de terrain que nous ayons. En dépistage de masse, il est associé à la palpation ganglionnaire. L'entrée dans la chaîne diagnostique se fait par le CATT Sg., ce qui écarte d'emblée tous les individus négatifs au CATT Sg.; or, parmi ceux-ci, il y en a qui sont positifs au CATT Sr. Au vu des résultats des deux enquêtes de Boko Songho, un certain nombre de questions se posent.

En utilisant le schéma classique du CATT en série (sur sang total, puis sur sérum, à l'issue duquel seuls les copositifs sont pris en compte), nous avons trouvé un taux de prévalence de 6,8%. Si l'on considère comme malades tous les positifs au CATT Sr., puisqu'il est le test déterminant dans le schéma classique, la prévalence serait de 17,8%. En prenant tous les positifs à l'un au moins des deux CATT, la prévalence atteindrait 19%. Doit-on considérer les 12,2% supplémentaires (19% - 6,8%) comme des

Positivation des CATT

Lors de la prospection réalisée un mois plus tard, 22,3% des résultats discordants à $J_{(0)}$ se sont révélés copositifs à $J_{(30)}$, confirmant l'existence d'authentiques suspects biologiques parmi les 12,2% de discordants initiaux.

Néanmoins la faiblesse de l'échantillon ne permet pas de conclure dans l'immédiat, c'est pourquoi nous avons entrepris l'expérimentation sur rat. Au vu des premiers résultats il apparaît que les choses sont tranchées pour les rats non inoculés (CATT Sg. et Sr. négatifs) et les rats inoculés avec *T.g.* (CATT Sg. et Sr. positifs). Par contre les résultats sont difficilement interprétable-

The authors evaluate the choice of diagnostic chain (CATT in series or CATT in parallel) and discuss the interpretation of the discordant results.

Het probleem van de interpretatie van de CATT bij de detectie van *Trypanosoma brucei gambiense* slaapziekte.

Samenvatting — Massa-opsporing van Gambiense slaapziekte gebeurt meestal met de Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) in serie (totaal bloed CATT gevolgd door een serum CATT wanneer de eerste test positief is) en het opzoeken van trypanosomen in cervicale adenopathieën. Momenteel worden de dubbel positieven (totaal bloed CATT en serum CATT) en patiënten bij wie trypanosomen werden gevonden (in het bloed of de lymfeklieren) medisch behandeld.

Het voorkomen van patiënten bij wie de lymfeklierpunctie positief was, terwijl de totaal bloed CATT negatief bleef, bracht de auteurs ertoe de CATT in parallel uit de voeren (bloed én serum CATT) op 2.030 personen in de Boko Songho haard (Condo — Bouenza streek). Terwijl de prevalentie van de positieve gevallen bij de totaal bloed CATT en de serum CATT (CATT in serie) 6,8 % bedroeg, bereikte de prevalentie van de positieve gevallen bij ten minste één van de CATT's (CATT in parallel) 19 %.

De 12,2 % afwijkende resultaten (bloed+/serum- of bloed-/serum+) werden één maand later opnieuw onderzocht met de CATT en de Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT). Bij deze werden 22,3 % positief voor bloed en serum, terwijl 30,6 % negatief werden. Deze laatste groep stelt het probleem van de kruisreacties. De auteurs voerden een IFAT uit met *Trypanosoma congolense* (T.c.) als antigeen op 18 personen met een afwijkende CATT. Alle IFAT's uitgevoerd met T.c. waren positief tot 1/50ste drempel terwijl enkele van de sera negatief waren in IFAT wanneer *Trypanosoma brucei gambiense* als antigeen werd gebruikt.

De auteurs stellen zich vragen over de keuze van diagnostische batterij (CATT in serie of in parallel) en bespreken de interpretatie van deze afwijkende resultaten.

Reçu pour publication le 17 juillet 1990.

REFERENCES

1. Baker JR, McConnel E: Strains of *Trypanosoma* (Trypanozoon) *brucei* spp. isolated in Ethiopia from *Glossina tachinoides* and *Tragelaphus scriptus*. Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1973, 67, 153-154.
2. Frézil JL, Carrie J, 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. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol., 1974, 12, 11-126.
3. Hawking F: The resistance to human plasma of *Trypanosoma brucei*, *T. rhodesiense* and *T. gambiense*. II. Survey of strains from East Africa and Nigeria. Trans. Roy. Soc. trop. Med. Hyg., 1976, 70, 513-520.