

Application et valeur de la technique d'immunofluorescence indirecte au dépistage et à la surveillance épidémiologique de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense* (*)

J.-L. FREZIL

Chargé de Recherches de l'O.R.S.T.O.M.

J. CARRIE

Chef de la Division Technique du Service de l'Épidémiologie
et des Grandes Endémies de Brazzaville.

F. RIO

V.S.N., Chef du Secteur Opérationnel n° 1

RÉSUMÉ.

Le foyer congolais de Kinzaba est caractérisé par des formes cliniques paucisymptomatiques, à évolution larvée, et de diagnostic difficile.

Dans ce foyer, les auteurs essayent de préciser la valeur de l'immunofluorescence indirecte avec le concours de la recherche des IgM et de la filtration sur DEAE cellulose.

Les tests immunologiques portent sur 1 218 prélèvements de sang sec, 213 sérums et 210 LCR. 103 filtrations sur DEAE cellulose ont été réalisées.

Cette étude met en évidence l'intérêt du test d'immunofluorescence, beaucoup plus sélectif que la recherche de l'hypermacroglobulinémie. Elle confirme que la filtration sur cellulose, procédé lent et onéreux, ne peut être appliquée sur le terrain qu'à des sujets soigneusement sélectionnés.

Les auteurs estiment que, si leurs résultats se confirment, il faudra traiter les sujets immunofluorescents pour arriver à contrôler les foyers.

ABSTRACT.

In the People's Republic of Congo, the Kinzaba focus is characterized by almost symptomless clinical forms, very difficult to diagnosis.

In this focus, the authors try to precise the value of immunofluorescent antibody test with the help of IgM research and DEAE cellulose filtration.

The immunological tests were performed on 1 218 samples of dried blood, 213 sera and 210 CSF. 103 DEAE cellulose filtration have been carried out. This study point out the interest of immunofluorescent antibody test. It confirms that cellulose filtration, a very slow and expensive process, can only be used in the field on carefully chosen patients. The authors think that, if their results are confirmed, it would be necessary to cure immunofluorescent subjects to control the foci.

1. — INTRODUCTION.

En juillet 1971, dans le District de M'Fouati, un foyer de trypanosomiase a été reconnu dans un ensemble de hameaux groupant environ 1 500 habitants.

Ces hameaux se trouvent à 5 ou 7 kilomètres de Loutété, village de 1 800 habitants, situé sur le Chemin de Fer Congo-Océan, à 210 kilomètres à l'Ouest de Brazzaville. Ils s'échelonnent le long de la Route n° 1 qui ser-

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

penne dans une zone de savane arbustive semée d'îlots de forêt dense. Ces îlots deviennent plus nombreux à proximité du Niari, dont les méandres se trouvent à environ 4 kilomètres de la route.

Cette région, haut lieu historique de trypanosomiase, était considérée comme assainie depuis une quinzaine d'années. Les derniers dépistages dataient de 1962 et 1963 et n'avaient permis de déceler que deux trypanosomés pour le District de M'Fouati et quatre pour le District voisin de Madingou. Depuis, la prospection de routine renouvelée tous les deux ans restait sans résultat.

La prospection de juillet 1971 s'est effectuée avec un bon pourcentage de présence et a permis de dépister, par ponction ganglionnaire, 4 nouveaux trypanosomés dont le sang était négatif.

A la suite de ce résultat, il a été décidé d'effectuer une enquête IgM dans le groupe de hameaux contaminés, incluant également par prudence le gros village de Loutété. La prospection soigneuse, qui a été menée à l'occasion du recueil systématique des prélèvements de sang sur papier a fait déceler 23 trypanosomés supplémentaires.

Les tests d'immunodiffusion ont été positifs pour 13,3 % des habitants des hameaux et seulement 4,8 % à Loutété où aucun trypanosomé n'a été dépisté.

L'examen, de quelques retardataires et surtout des suspects, retenus en raison d'une forte augmentation des IgM sériques, a conduit au dépistage de 33 nouveaux cas, soit 16 par ponction ganglionnaire et 17 par examen des gouttes épaisses.

La mise en évidence d'IgM dans le LCR de 4 suspects a permis de retenir également pour ceux-ci le diagnostic de trypanosomiase. Enfin l'examen chimique et cytologique des LCR a conduit au traitement par trypanocide de 21 porteurs d'IgM dont le L.C.R. était altéré. Les sujets présentant une simple augmentation des IgM sériques ont été soumis à des contrôles périodiques.

En raison d'un index parasitaire moyen de contamination nouvelle qui dépassait 5, une lomidinisation systématique de la population a été décidée : elle s'est effectuée sans véritable discrimination entre porteur ou non d'IgM avec un pourcentage de présence voisin de 90.

La surveillance du foyer a été assurée dans d'assez bonnes conditions par prospection complète de la région et convocation au laboratoire central des suspects suivis.

Au cours de l'année 1972, 17 nouveaux malades ont été ainsi mis en traitement (soit 7 nouveaux trypanosomés et 10 « suspects cliniques »).

Il est à noter que la mise en évidence du parasite s'est avérée particulièrement difficile et la filtration sur DEAE cellulose a permis, seule, le dépistage de 3 sur 5 trypanosomés en deuxième période et des 2 trypanosomés en première période.

Il est possible que cet important foyer circonscrit se soit constitué par contamination en provenance de Jacob ou Loudima, agglomérations situées à une centaine de

kilomètres à l'Ouest, où de nombreux cas ont été enregistrés en 1966 et 1968.

Compte tenu des dépistages successifs au cours de l'année 1972, le foyer apparaissait très insuffisamment contrôlé, l'essaimage de l'affection et la reprise des foyers de Jacob et Loudima étaient à craindre.

Une nouvelle prospection s'imposait et, en vue d'améliorer la sélection des suspects, les tests d'immunofluorescence indirecte et d'immunodiffusion ont été effectués simultanément sur les prélèvements systématiques de sang sec, ainsi que sur les sérums et liquides céphalo-rachidiens des sujets reconnus positifs après ce premier examen.

La technique de filtration du sang sur DEAE-cellulose a été effectuée directement sur le terrain pour rechercher plus activement le parasite.

Enfin l'utilisation simultanée de ces diverses techniques devait concourir à préciser leur valeur respective.

Notre enquête est donc située dans un cadre très particulier :

— foyer longuement inventorié par des prospections successives mettant en jeu la sélection immunologique par IgM et ayant abouti au dépistage de 71 trypanosomés avérés et de 31 « suspects cliniques »;

— foyer remanié par une lomidinisation de masse datant de 16 mois qui a très certainement réduit les risques de contamination, mais peut être contribué à créer les difficultés actuelles de mise en évidence du parasite.

Cette enquête se donne pour but de faire le point actuel du foyer et de rechercher, pour deux nouvelles techniques applicables au dépistage, l'intérêt pratique et les difficultés à surmonter pour des examens de grande série.

2. — MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Au cours de notre enquête, outre les techniques de prospection classique, nous avons utilisé :

— La filtration sur DEAE-cellulose (LANHAM, 1971).

— La recherche de l'augmentation des macroglobulines sériques sur sang sec selon la technique de Cunningham modifiée par l'un de nous (CARRIÉ, 1969).

— Le test d'immunofluorescence indirecte que nous allons décrire plus longuement.

2.1. Immunofluorescence indirecte (IFI).

Nous avons employé la technique décrite par WERY *et al.* (1970), à laquelle nous avons apporté quelques variantes : la souche d'antigène, le mode de prélèvement de sang au rat, le titre de la dilution de l'immunsérum fluorescent et les combinaisons microscopiques d'examen.

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DE LA TRYPANOSOMIASE

2.1.1. LA SOLUTION TAMPON.

La solution qui sert à toutes les manipulations est la suivante :

Na Cl = 8,5 g
Na₂HPO₄, 12H₂O = 3,54 g
Eau distillée = 1 000 cc
Le pH est de 7,2 à 7,4.

2.1.2. L'ANTIGÈNE.

Nous avons utilisé, comme antigène, une souche de *Trypanosoma brucei gambiense*, isolée le 17 novembre 1970 à Loudima et entretenue par transmission mécanique sur rats blancs.

Le rat destiné à l'expérimentation est inoculé par voie intrapéritonéale avec une grande quantité de trypanosomes (environ 300 000 000). Vers le quatrième jour, il présente sur frottis et à l'immersion (oculaires X 10) entre 4 et 10 trypanosomes par champs, le sang est alors prélevé au sinus sanguin de l'œil avec une pipette Pasteur, préalablement héparinée et desséchée à l'étuve.

Le sang est alors mélangé à 0,25 cc de la solution : Héparine 500 UI/cc (1 partie) et glucose à 25 % (1 partie). Les frottis sont effectués le plus rapidement possible. Cette technique permet de préparer environ 400 lames d'antigène.

Les lames sont enveloppées dans du papier et conservées par paquets de 10 à -20 °C.

Au moment de l'emploi, pour éviter que les frottis ne se recouvrent de buée, on a intérêt à placer les paquets pendant 1 heure dans un dessiccateur, à température ambiante.

2.1.3. LE SÉRUM FLUORESCENT.

Nous employons le sérum fluorescent antiglobulines humaines de l'Institut Pasteur.

2.1.4. LES PRÉLÈVEMENTS DE SANG, SÉRUM ET LCR.

Les prélèvements de sang sont faits sur papier Whatman n° 1, les papiers sont rassemblés en carnets de 20 et conservés à -20° dans une boîte hermétique contenant du silica-gel.

Les sérums et LCR sont conservés en ampoules scellées, au congélateur.

2.1.5. RÉALISATION DU TEST.

— 8 cercles sont tracés au vernis à ongles ordinaire sur chaque lame d'antigène.

— Confettis : on dépose dans chaque cercle 0,03 cc de tampon. Les confettis, de 5 mm de diamètre, sont placés

sur le sommet de la goutte. Les lames sont ensuite mises en chambre humide pendant 1 heure. Selon WEÛY (*loc. cit.*), la dilution du sérum obtenue ainsi est de l'ordre du 1/10.

— Sérums : les sérums sont dilués au 1/20, 1/50, 1/100 et 1/500 dans le tampon. On dépose une goutte de dilution dans chaque cercle et on laisse réagir 1/2 heure en chambre humide.

— Les lames sont lavées dans 3 bains successifs de tampon pendant 15 minutes.

— L'eau de rinçage en excès est éliminée et les lames sont recouvertes de 1 cc de sérum fluorescent dilué au 1/200 dans le tampon. Elles sont à nouveau placées pendant 1/2 heure en chambre humide.

— Les lames sont lavées à nouveau dans 3 bains de tampon pendant 15 minutes.

— Après avoir éliminé l'eau en excès, les frottis sont montés à l'aide du mélange : glycérine (1 cc), tampon (9 cc).

— La lecture doit être effectuée dans la journée. En fait, elle a été effectuée dès la fin de la manipulation.

— Un opérateur et un aide peuvent faire 200 examens en une matinée.

2.1.6. EXAMEN AU MICROSCOPE.

Nous avons employé le microscope à fluorescence standard CARL ZEISS, équipé avec une lampe à vapeur de mercure HBO 200, avec les combinaisons optiques : oculaires X 12 et objectif X 40.

Le meilleur contraste a été obtenu avec le filtre d'excitation BG 12 et les filtres d'arrêt 50 et 44.

2.1.7. LECTURE ET INTERPRÉTATION.

Le code de lecture est le même que celui de WERY (*loc. cit.*) :

± Trypanosomes peu distincts du fond.

+ Trypanosomes nettement visibles, mais non fluorescents.

++ Trypanosomes montrant une légère fluorescence.

+++ Trypanosomes très nettement fluorescents sur fond sombre.

Ce code de lecture doit être utilisé pour l'ensemble des réactions et permet de vérifier constamment la bonne réalisation des tests.

Cependant l'interprétation des résultats sera différente pour les confettis et sérums d'une part et pour les LCR d'autre part.

Pour les confettis et sérums, seuls les tests +++ seront considérés comme positifs.

Pour les LCR, la moindre fluorescence sera retenue comme très suspecte, bien que l'on puisse observer des réactions positives aussi intenses que pour les sérums.

La lecture des LCR étant particulièrement délicate, il est nécessaire d'utiliser un témoin faiblement positif (+) par lame, pour faciliter la mise au point.

La réaction de fluorescence positive peut présenter 3 aspects :

— Cytoplasme et flagelles sont très fluorescents, tandis que les noyaux le sont moins.

— Toutes les structures du trypanosome montrent une fluorescence d'égale intensité.

— Le noyau seul est fluorescent. (Nous avons considéré cette réaction comme positive, bien qu'elle soit plus rare que les 2 autres).

Notre travail porte sur environ 2 000 tests IFI différents et nous avons pu contrôler la bonne reproductibilité des résultats sur des séries complètes.

Cette technique d'une grande simplicité et d'une lecture facile doit cependant être effectuée par un technicien expérimenté et très méthodique.

2.2. Conduite de l'enquête.

Telle que nous l'avons conçue, l'enquête présente 3 temps :

— Tout d'abord, prospection classique, avec prélèvement d'échantillons de sang sur papier filtre à toute la population. Ces échantillons sont testés dès le retour au laboratoire central.

— Ensuite, examen clinique, parasitologique et prélèvement de sérum et L.C.R. sur tous les sujets retenus après les premiers tests. Ces prélèvements en ampoules scellées seront examinés dès le retour au laboratoire.

— Enfin, le bilan biologique et immunologique étant terminé, réexamen complet du groupe sélectionné.

3. — RÉSULTATS.

Pour la commodité de l'exposé, nous étudierons les résultats selon les 3 temps de l'enquête :

— Résultats des examens immunologiques sur sang sec.

— Résultats des examens immunologiques sur sérums et L.C.R.

— Résultats du dépistage clinique et parasitologique.

3.1. Résultats des examens immunologiques et parasitologiques.

3.1.1. EXAMENS IMMUNOLOGIQUES SYSTÉMATIQUES SUR SANG SEC.

Les prospections antérieures et l'enquête épidémiologique ont montré des différences très importantes de contamination qui distinguent nettement 2 groupes de hameaux.

Le premier groupe, qui recense la quasi totalité des anciens trypanosomés, comprend les villages de Moupepe, Moussassi, Kimpombo et Kingouala-Nsouadi (1 107 habitants).

Le deuxième groupe où un seul trypanosomé a été dépisté en 2 ans comprend Kinkoumba-Tanga, Pont Le Briz et Kimbedi-bac (466 habitants).

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

(Le tabl. A, présenté en annexe, indique les détails de ces résultats).

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

Nous comparons dans 2 tableaux (B et C) donnés en annexe, les résultats des tests IgM et IFI de ces 2 groupes de village en fonction du sexe et des tranches d'âge.

TABLEAU 1. — Résultats bruts : IFI et IgM sur 1 218 prélèvements

	Visités	IFI —		IFI douteux		IFI +++		% IgM +
		IgM —	IgM +	IgM —	IgM +	IgM —	IgM +	
Groupe 1.	849	686	54	54	15	19	21	10,6 %
		87,1 %		8,1 %		4,7 %		
Groupe 2.	369	323	21	19	4	2	0	6,7 %
		93,2 %		6,2 %		0,5 %		

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DE LA TRYPANOSOMIASE

On retrouve 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.

A l'issue des examens qualitatifs effectués sur prélèvement sec, 209 sujets ont été convoqués pour contrôle complet.

- 75 avec une augmentation isolée des IgM;
- 92 avec un test IFI douteux;
- 42 avec un test IFI positif.

TABLEAU 2. — Sujets convoqués pour contrôle et effectivement contrôlés

	IFI —		IFI douteux		IFI positif		Total
	IgM +	IgM —	IgM +	IgM —	IgM +		
A contrôler.	75	73	19	21	21	209	
Contrôlés	55	57	18	21	21	172	

Vingt augmentations isolées des IgM et 16 IFI douteux n'ont pu être contrôlés.

D'autre part 41 sujets, anciens trypanosomés, suspects cliniques et cas particuliers ont été soumis au même contrôle.

Nous avons complété notre enquête par l'examen de 369 ouvriers (Hommes de 20 à 50 ans) de la Cimenterie de Loutété (CIDOLOU) :

- 346 sont négatifs aux 2 tests;
- 5 présentent une augmentation isolée des IgM;
- 2 sont IFI positifs et 16 IFI douteux.

Bien que ces résultats soient très voisins de ceux du deuxième groupe de hameaux, nous les étudierons séparément, car ils concernent une tranche de population particulière résidant à Loutété.

3.1.2. EXAMENS IMMUNOLOGIQUES DES SÉRUMS ET L.C.R. DES SUSPECTS.

Au cours du contrôle nous avons recueilli 213 sérums et 210 L.C.R. sur les 172 suspects immunologiques et les 41 anciens trypanosomés et suspects cliniques retenus.

Ces deux prélèvements, testés par immunofluorescence, fournissent les résultats suivants :

TABLEAU 3. — Sérums

± et + 1/20	++ 1/20	+++ 1/20		
150	35	28		
		++ 1/50	++ 1/100	++ 1/500
		14	13	1

Vingt-huit sérums sont positifs à la dilution 1/20; 25 d'entre eux correspondent à des prélèvements sur sang sec considérés positifs mais 3 à des prélèvements considérés douteux. En règle, le confetti correspond à une dilution du sérum inférieure au 1/20.

TABLEAU 4. — LCR

±	+	++	+++	Total
193	8	5	4	210

Neuf L.C.R. sur 210 donnent une réaction positive et 8 une réaction suspecte.

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 L.C.R. concentrés, qui correspondent d'ailleurs à des tests IFI fortement positifs.

3.2. Résultats du dépistage parasitologique.

3.2.1. LA FILTRATION SUR DEAE CELLULOSE ET LES EXAMENS CLASSIQUES.

Pour accroître les chances de mise en évidence du parasite et dans une certaine mesure préciser le seuil de positivité et la fidélité du test d'immunofluorescence, nous avons effectué, outre les examens classiques, la filtration du sang sur DEAE cellulose de 92 suspects. Comme 11 examens ont été renouvelés à 15 jours d'intervalle, 103 filtrations au total ont été réalisées.

Il est à souligner que ces filtrations ont porté sur le sang de 31 sujets dont le test IFI était fortement positif (+++) mais aussi sur 41 sujets douteux et 20 augmentations isolées des IgM ou raisons cliniques.

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.

Un nouvel examen intégral des 4 gouttes épaisses des trypanosomés ainsi reconnus a permis secondairement de trouver sur l'un des prélèvements un unique trypanosome.

D'autre part, un enfant de 9 ans, qui présentait de petits ganglions cervicaux, a été dépisté au suc ganglionnaire, à la goutte épaisse et à la filtration; nous soulignons ce cas particulier car il se rapporte au seul nouveau trypanosomé dont le titrage du sérum donnera une valeur douteuse au 1/20 avec prédominance de la fluorescence des noyaux.

Le diagnostic pour ce malade était relativement aisé et la filtration du sang n'avait été entreprise, qu'en raison de l'insuccès de la première ponction ganglionnaire. Ce cas limite, IgM + lors du dépistage, pourrait correspondre à une contamination récente, quatre examens successifs n'ayant jamais montré antérieurement d'augmentation de cette protéine.

Outre les 5 filtrations positives, la recherche du parasite a abouti :

- 5 fois pour 54 sucs ganglionnaires;
- 2 fois pour 213 gouttes épaisses;
- 1 fois pour 220 L.C.R. examinés.

Disposant de la filtration du sang, procédé supérieur à la triple centrifugation, nous n'avons effectué ce dernier examen que 3 fois et d'ailleurs sans résultat.

L'ensemble de ces examens parasitologiques a permis de dépister 9 nouveaux trypanosomés et de retrouver le parasite chez un ancien trypanosomé présentant une rechute (seul malade dont le L.C.R. a été centrifugé).

Nous indiquons en annexe D le résultat des examens effectués pour chaque malade.

3.2.2. RÉPARTITION DES CAS DE TRYPANOSOMIASE.

3.2.2.1. Localisation.

Pour mieux fixer la physionomie du foyer, nous indiquons la répartition des cas de trypanosomiase entre les différents villages.

TABLEAU 5. — Répartition des cas de Trypanosomiase

Hameaux	Popula- tion recensée	AT recensés	ICT	SC recensés	Popula- tion visitée	IFI +++	% IFI visités	NT dépistés
Moupepe	319	7	2,2	6	192	6	3,1	1
Moussassi.	130	28	27,4	6	115	17	14,7	4
Kimpombo	424	24	6,0	9	353	12	3,4	3
Kingouala-Nsouadi	234	8	3,5	0	189	5	2,6	1
Total partiel	1 107	67	6,4	21	849	40	4,7	9
Kinkoumba-Tanga.	297	1	0,3	0	247	0	0	0
Kimpombo Pont Le Briz.	144	0	0	0	82	1	1,2	0
Kimbedi Bac	55	0	0	0	40	1	2,5	0
Total partiel	466	1	0,2	0	369	2	0,5	—
Total général	1 573	68	4,5	21	1 218	42	3,4	9

Le calcul des index de contamination totale (ICT) et des pourcentages de tests positifs en immunofluorescence (IFI +++) montre une bonne concordance entre ces deux valeurs, ainsi qu'avec le nombre des nouveaux dépistés. Dans le groupe de hameaux contaminés dont l'ICT s'élève à 6,4 et le pourcentage des tests immunofluorescents à 4,7, neuf trypanosomés sont dépistés. Dans le groupe des hameaux pratiquement indemnes l'ICT et le % IFI sont très bas (respectivement 0,2 et 0,5).

Moussassi, hameau du premier groupe, où un habitant sur quatre a été atteint de trypanosomiase, se distingue

nettement avec un ICT de 27,4 et un pourcentage IFI atteignant 14,7.

Ce village apparaît comme étant l'épicentre du foyer, ce que confirme l'enquête entomologique (FREZIL, 1973). En effet, les habitants des villages contaminés, et en particulier les familles des trypanosomés, ont un point d'eau commun, situé dans un gîte à *Glossina palpalis palpalis* à proximité de Moussassi.

Ainsi liée aux activités communes, la contamination est assez homogène à l'intérieur du groupe de population directement exposé; on note cependant des cas plus nom-

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DE LA TRYPANOSOMIASE

breux pour le sexe masculin, ainsi qu'une plus grande fréquence chez les adultes de l'un ou l'autre sexe.

3.2.2.2. Répartition en fonction de l'âge et du sexe.

Nous indiquons ci-dessous le nombre total des trypanosomés reconnus, l'ICT qui en découle, les pourcentages d'immunofluorescence et d'IgM en fonction du sexe et de l'âge pour les hameaux contaminés.

Pour les hameaux indemnes, nous nous bornerons à indiquer les pourcentages d'IgM. En effet l'ICT ne peut être calculé que pour le groupe de plus de 20 ans, le seul cas recensé de trypanosomiase étant une femme adulte. De même le pourcentage d'immunofluorescence est nul pour le groupe de moins de 20 ans, il est de 1,4 pour les adultes, provenant de deux tests positifs dans le groupe des femmes.

TABLEAU 6. — Répartition en fonction de l'âge et du sexe

	HAMEAUX CONTAMINÉS				HAMEAUX INDEMNES		
	Trypanosomés		ICT	% IFI	% IgM	ICT	% IgM
	Moins de 20 ans	Masc.	24	8,1	3,3	5,0	
	Fém.	11	3,4	3,4	6,4		4,2
		35	5,6	3,4	5,7		2,2
Plus de 20 ans	Masc.	21	12,0	9,5	12,5		9,0
	Fém.	20	8,2	4,7	20,9	0,8	12,1
		41	9,8	6,6	17,6	0,5	11,1

On constate une assez bonne concordance entre l'ICT et le pourcentage IFI indépendamment du sexe et de l'âge. Par contre s'il existe un certain rapport entre ICT et IgM dans le groupe des moins de 20 ans, la divergence, qui s'amorce déjà dans ce même groupe pour le sexe féminin, s'amplifie considérablement après 20 ans en particulier chez les femmes.

Ainsi « l'index IFI » paraît mieux traduire « l'imprégnation trypanosomiase », d'autant que l'hypermacroglobulinémie, relative à l'affection, régresse plus rapidement par le traitement spécifique que les positivités plus persistantes de l'immunofluorescence.

4. — EXPLOITATION DES RÉSULTATS.

4.1. Corrélation des examens immunologiques, parasitologiques et des renseignements cliniques.

4.1.1. RÉPARTITION DES TITRES IFI DES SÉRUMS.

Nous avons cherché à préciser le titre des 213 sérums recueillis. Arbitrairement, la dernière dilution donnant une réaction douteuse a été considérée comme correspondante au titre.

TABLEAU 7. — Titre des Sérums en IFI

	<1/20	++ 1/20	++ 1/50	++ 1/100	++ 1/500
9 N.T.		1 T+ suc— GE et filtration	2	5	1
5 Nouv. S.C.	1		2	2	
69 A.T.	52	13	2	2	
17 S.C.	13	1	2	1	
113 divers.	84	20	6	3 (dont 1 +++)	
Totaux 213	150	35	14	13	1

Sur les 213 sérums recueillis, 42 seulement correspondent à des tests fortement positifs sur sang sec. Il est à noter que 96 tests douteux sur sang sec donnent à l'examen du sérum 3 réactions positives à la dilution 1/20; on peut supposer une erreur technique.

A l'opposé 17 tests considérés positifs sur sang sec sont douteux ou négatifs au 1/20 à l'examen du sérum : le confetti de sang sec correspond effectivement à une dilution du sérum inférieure au 1/20, ce qui ne peut qu'être favorable à la sélection des suspects.

Tous les tests cotés (+++) à leur dernière dilution ont donné un test douteux à la dilution supérieure, à l'exception d'un sérum (+++) au 1/100 qui était négatif à la dilution suivante, et très éloignée, du 1/500.

WERY (*loc. cit.*) retient comme très significatifs les tests (+++) à la dilution 1/20, en effet sur 28 sérums donnant un tel résultat, 18 correspondent à des malades nouveaux ou anciens.

Un trypanosomé présente une réaction douteuse au 1/20; il s'agit de cet enfant simultanément positif au suc, à la goutte épaisse et à la filtration pour lequel nous avons envisagé une contamination récente. Au demeurant la preuve parasitologique pour ce malade a été facile à apporter.

Bien que plus de la moitié des NT aient un titre (+++) compris entre le 1/50 et le 1/100, et qu'un tel titre doive inciter à une recherche active du trypanosome, l'examen systématique des sérums dilués ne doit pas être envisagé car il n'améliore pas la sélection. En effet, les 9 NT font partie des 42 suspects sélectionnés par l'examen

du sang sec, sur plus de 1 200 personnes. Les 25 sérums positifs, provenant de ces suspects, permettraient de dépister seulement 8 trypanosomés; le dépistage du neuvième, égaré parmi 35 tests douteux, nécessiterait donc l'examen de 60 sujets (25 positifs et 35 douteux). Il est probable que si les tests sur sérums dilués avaient porté sur l'ensemble des 1 200 habitants, nous aurions obtenu un nombre beaucoup plus considérable de tests douteux au 1/20. Déjà pour les 213 sérums examinés, 60 sont douteux au 1/20.

La facilité de prélèvement et l'identification moins sujette à erreur du sang recueilli sur papier, rend, de plus, cette méthode préférable pour la sélection des suspects.

Par ailleurs, le titrage des sérums élimine surtout quelques anciens trypanosomés (donc connus), qu'il est cependant nécessaire de contrôler, et pour lesquels l'état clinique et les résultats de la ponction lombaire auront plus d'intérêt que l'observation d'un test immunologique résiduel.

Cependant le titrage garde son intérêt dans le contrôle de l'identification des suspects. Il peut renforcer la probabilité de la maladie et peser sur la décision thérapeutique.

4.1.2. RECHERCHE DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE DES L.C.R.

Deux cents dix liquides céphalo-rachidiens ont été examinés et se répartissent comme suit :

TABLEAU 8. — Examen en IFI des LCR

LCR	±		+		++		+++	
	N (1)	A (2)	N	A	N	A	N	A
8 NT	4	2	1			1		
4 Nouv. SC.		1		1		1		1
19 AT (I).	17		1			1		
50 AT (II).	45	3				1		1
17 SC.	15							2
112 autres	99	7	5		1			
Total : 210	180	13	7	1	1	4	—	4

(1) N = LCR normal au contrôle.

(2) A = LCR altéré au contrôle. AT 1 et AT 2 : anciens trypanosomés en 1^{re} ou 2^e période lors du dépistage.

Nous constatons que les tests positifs (++ ou ++++) sont au nombre de 9. Huit d'entre eux correspondent à des anciens ou nouveaux malades dont les L.C.R. sont altérés et qui se répartissent comme suit :

- 4 trypanosomés avérés (1 NT et 3 AT, dont 1 en rechute caractérisée);
- 2 suspects cliniques antérieurement traités, présentant actuellement une aggravation de l'altération du L.C.R.,

avec présence d'IgM (le diagnostic rétrospectif de trypanosomiase peut être retenu pour ces deux malades);

— 2 nouveaux suspects cliniques à L.C.R. altéré (l'un présentant 0,40 g/l d'albumine et l'autre 41 cellules par mm³ à la cellule de Nageotte).

Nous ne pouvons actuellement expliquer le 9^e cas, apparemment idemme.

Cette répartition montre néanmoins que la positivité du test IFI dans le L.C.R. est étroitement liée à la trypanosomiase.

Cette maladie est alors :

— soit prouvée par la présence du parasite ou de l'IgM,

— soit très probable en raison de l'altération albuminocytologique.

Dans le L.C.R. des sommeilleux, le test IFI est plus fréquemment positif et paraît plus précoce que la présence d'IgM en quantité facilement dosable. Aussi la plus discrète fluorescence du L.C.R. doit être considérée comme particulièrement suspecte et entraîner une surveillance étroite (bien entendu les L.C.R. à examiner ne devront contenir aucune trace de sang.)

4.1.3. IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET MACROGLOBULINÉMIE.

La recherche de l'augmentation des IgM sur sang sec aurait permis le dépistage de 8 NT sur 115 tests positifs; l'immunofluorescence indirecte entraîne le dépistage de 9 NT sur 42 tests positifs.

Ceci montre que la technique d'IFI appliquée au dépistage de la trypanosomiase est plus fidèle et nettement plus sélective que la recherche des IgM.

Aussi, la mise en évidence de l'augmentation des IgM ne doit pas précéder la recherche de l'IFI, lorsque ce dernier test peut être correctement réalisé en grande série. L'hypermacroglobulinémie conserve son intérêt lorsqu'elle est recherchée sur les sérums et les L.C.R. des sujets sélectionnés, afin d'étayer la probabilité ou le diagnostic de la maladie.

Chez 64 sommeilleux porteurs d'IgM au dépistage (15 anciens trypanosomés dépistés en 1^{re} période, 38 en 2^e période et 11 suspects cliniques) la recherche du taux sérique, 12 à 18 mois après traitement montre une régression quasi constante pour les AT I (ex 1^{re} période) une baisse moins franche pour les AT II (ex 2^e période), et une persistance plus grande pour les suspects cliniques (traitement superflu?).

Par contre, 12 à 18 mois après traitement, les tests IFI sont :

- 5 fois douteux pour 15 AT I;
- 7 fois positifs et 9 fois douteux pour 38 AT II;
- 1 fois positif et 1 fois douteux pour les 11 suspects cliniques.

Ceci démontre qu'après traitement la positivité de l'immunofluorescence est plus persistante que celle des IgM.

4.2. Caractères cliniques particuliers du foyer.

On relève un type de contamination à groupement familial. L'affection paraît bien et longuement supportée, et rares sont les signes cliniques évocateurs chez les malades dépistés. Il faut souligner cependant la fréquence des deuxièmes périodes, mais les liquides céphalo-rachidiens en sont peu altérés, avec souvent dissociation albumino cytologique discrète au profit de l'albumine.

L'évolution paraît larvée : le dépistage survient souvent plus d'un an après que le sujet ait été reconnu suspect. La réponse au traitement semble néanmoins bonne puisque nous n'enregistrons pour l'ensemble des cas traités que trois rechutes. Deux d'entre elles présentent une symptomatologie réduite avec état général conservé; seul un enfant en deuxième période traité en août 1971 constituera à notre insu, une évolution clinique manifeste durant plusieurs mois; il ne sera réexaminé qu'au cours de notre enquête, grabataire et lethargique, avec présence de trypanosomes dans le L.C.R.

La mortalité dans ces hameaux n'apparaît point anormale et d'après nos recensements médicaux la trypanosomiase ne semble pas devoir être retenue comme cause essentielle. Parmi nos malades, 4 trypanosomés sont décédés : 1 d'encéphalopathie arsenicale certaine, 1 d'intoxication arsenicale probable avec décès retardé, 2 de maladie intercurrente non précisée, dont 1 avant traitement spécifique.

REY (1971) constatait le type inhabituel de ce foyer, juxtaposant un aspect épidémique récent et une prédominance des formes à L.C.R. altéré; ces altérations d'ailleurs modérées ne s'accompagnant pas de signes objectifs nets de la maladie.

Nous avons aussi procédé à des isollements de souches d'origine différente (Loudima, Jacob et Cuvette Congolaise) et d'après nos premiers résultats, il semblerait que la virulence des trypanosomes pour les rats blancs soit plus faible avec les souches provenant du foyer étudié.

5. — VALEUR ET LIMITE DES EXAMENS EN IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE.

5.1. La sélection par test IFI sur sang sec.

Le tableau ci-après démontre l'excellente sélectivité du test IFI appliqué au sang sec. Les 1 218 tests effectués sélectionnent 42 suspects; parmi ceux-ci on compte 17 ma-

lades sur les 18 retenus à l'issue de l'ensemble des examens biologiques et cliniques. Outre ces 17 malades, on compte 6 AT, ce qui fait un total de 23 sujets ayant de bonnes raisons d'être positifs à la fluorescence.

Les 18 malades se répartissent ainsi :

- 9 nouveaux trypanosomés,
- 4 nouveaux suspects { 2 à L.C.R. nettement altéré,
1 altération discrète,
1 L.C.R. normal,
- 3 anciens trypanosomés : { 2 L.C.R. altérés dont 1 T+,
1 L.C.R. limite,
- 2 suspects cliniques, rechutes manifestes.

Ce tableau laisse échapper un ancien trypanosomé âgé de 10 ans, sans hypermacroglobulinémie dans le sang, mais présence de cette protéine dans le L.C.R. La recherche de l'IFI sur sang sec et sur le sérum a donné des résultats douteux; par contre le L.C.R. 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.

TABLEAU 9. — Résultats des examens biologiques

Nombre de tests IFI sur sang sec	1 218																	
Nombre de tests IFI positifs	42																	
IgM correspondants	21 positifs									21 négatifs								
Examen en IFI des sérums correspondants	IFI positif (+)			IFI douteux (D)			IFI négatif (—)			IFI positif (+)			IFI douteux (D)			IFI négatif (—)		
	18			3			0			7			7			7		
Examen en IFI des LCR correspondants (1). . . .	IFI			IFI			IFI			IFI (1)			IFI			IFI		
	+	D	—	+	D	—	+	D	—	+	D	—	+	D	—	+	D	—
	7	2	9	+	D	3	+	D	—	1	2	3	+	D	7	+	D	7
Nouveaux malades: Trypanosomés .	2		5			1				1								
Suspects	2	1	1															
Anciens malades: AT I										1	1							
AT II.	1(2)					1									2			2
SC.	2(2)																	

(1) 1 LCR n'a pu être testé.
(2) Rechute caractérisée.

Par ailleurs, une femme âgée de 53 ans, suivie depuis août 1971 pour augmentation des IgM (L.C.R. normal, examen clinique sans anomalie) présente également un L.C.R. IFI positif, tandis que son sang sec et son sérum sont négatifs.

Cette femme non traitée en raison de son excellent état général, est soumise à un contrôle médical étroit.

La forte proportion de malades en évolution (15 sur 21) dans le groupe des individus simultanément IFI et IgM positif, incite à une surveillance stricte des 5 sujets appa-

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DE LA TRYPANOSOMIASE

remment indemnes, ainsi que de l'ancien trypanosomé 2^e période, moins suspect, car présentant actuellement un sérum douteux et un L.C.R. négatif.

5.2. L'index immunofluorescence.

Il paraît artificiel de fixer une limite nette aux possibilités de contamination entre des groupes de population vivant à quelques kilomètres les uns des autres. Nous reprendrons cependant les résultats bruts constatés pour la population contaminée et la population considérée indemne.

D'autre part, nous rappelons l'examen de 369 ouvriers de la Cimenterie de Loutété parmi lesquels nous ne connaissons pas d'anciens trypanosomés; 2 ouvriers seulement présentent des tests sur sang sec positif : (— l'un : sérum douteux au 1/500 — L.C.R. normal, — l'autre : sérum douteux 1/50 — L.C.R. = 8 cellules et 0,20 G/L d'albumine).

Dans les 2 cas la recherche parasitologique est demeurée négative, la filtration n'a pu être réalisée.

Il se trouve que le pourcentage de positivité IFI pour ce groupe d'ouvriers est identique à celui obtenu dans le groupe de hameaux apparemment indemne.

TABLEAU 10. — Index IFI et Trypanosomiase

	Trypano. recensés AT + NT	ICT actuel	Population visitée	Tests IFI positifs	Index IFI = $\frac{\text{Tests} + X}{\text{visités}} \times 100$
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 une personne sur 200 puisse présenter un test positif.

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

6. — CONCLUSION.

— Sur le plan clinique.

Notre étude montre que d'importants foyers peuvent être constitués par une majorité de formes paucisymptomatiques, à évolution larvée, de diagnostic non évident.

Nous croyons ces formes trompeuses et de fâcheux pronostics, même si elles semblent longuement tolérées. La dissociation albumino cytologique, ici ébauchée, spontanée ou induite par la lomidinisaison, se rencontre souvent après échec du traitement. Elle accompagne des formes torpides et remaniées qui évoluent lentement vers la déchéance. Cet aspect n'entraîne que rarement le diagnostic en l'absence de notion d'atteinte antérieure par la trypanosomiase.

Il serait dangereux de présumer :

— de l'évolution éloignée, sans traitement, de ces formes cliniques longuement contenues, qui peuvent être déterminées par des conditions localisées, particulières, peut-être passagères (l'excellent équilibre nutritionnel constaté ici pourrait expliquer un certain degré de trypano tolérance).

— de la dynamique propre du parasite quand on connaît sa plasticité et ses variations de virulence.

— Sur le plan du diagnostic.

L'étude de ce foyer montre l'insuffisance du triage ganglionnaire et souligne la difficulté d'apporter la preuve parasitologique extemporanée dans le cadre d'une prospection de routine.

Elle confirme l'intérêt de la recherche des modifications humorales pratiquement constantes au cours de la maladie, telle que l'hypermacroglobulinémie, regrettablement non spécifique; elle met en évidence le haut intérêt du test d'immunofluorescence beaucoup plus sélectif, son degré de spécificité ayant pu être approché par la filtration du sang sur DEAE cellulose.

Cette remarquable technique d'enrichissement ne peut être appliquée qu'à des suspects, très exceptionnellement sur le terrain. Elle serait un procédé trop lent et onéreux pour un dépistage de masse.

— Sur le plan épidémiologique.

Si l'on tient compte :

1^o des difficultés rencontrées pour stériliser les anciens foyers qui nécessitent un dépistage exhaustif;

2° de l'application délicate, toujours limitée, rapidement interrompue de la lutte anti-glossine.

Il semblerait fondé, si ces résultats se confirment, de soumettre à la thérapeutique spécifique, les suspects désignés par test IFI positif et confirmés au sérum, leur nombre étant très voisin de celui des trypanosomés reconnus dans un laps de temps court.

Nous pensons qu'il conviendra sur le plan pratique d'évaluer risque et bénéfice du traitement, tant sur le plan individuel que collectif. Nous disposons en effet de l'observation d'un homme suivi en raison de l'augmentation isolée des IgM sériques depuis juin 1971, qui ne sera dépisté, grâce à la filtration sur cellulose, qu'en mai 1972.

Sur ce malade qui conservait un bon état général et ne présentait aucun signe clinique objectif ou subjectif, le xénodiagnostic pratiqué simultanément à la filtration, mettait le trypanosome en évidence.

Manuscrit reçu au S.C.D. le 16 janvier 1974.

BIBLIOGRAPHIE

CARRIE (J.), 1969. — Méthode simplifiée de mise en évidence des IgM appliquée au dépistage de la trypanosomiase humaine. Technique. *Rapp. final 9^e Conférence Technique O.C.C.G.E.*, 21 avril 1969.

FREZIL (J. L.), 1973. — Étude de la transmission de la Trypanosomiase humaine africaine dans le foyer de Loutété-Kinzaba. *Rapp. ronéo. O.R.S.T.O.M.-Brazzaville n° 140/73/JLF*, 12 pages.

GODFREY (D. G.) et LANHAM (S. M.), 1971 — Diagnosis of Gambian Trypanosomiasis in man by isolating trypanosomes from blood passed through DEAE-cellulose. *Bull. OMS*, 45 : 13-19.

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 (50) : 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, Med. Trop.*, 50 (6) : 711-730.

REY (J. L.) et PASQUIER (G.), 1972 — Un nouveau foyer de Trypanosomiase humaine au Congo. *Première Réunion Commune OCCGE-OCEAC*, Paris, 2 au 5 mai 1972. 1 : 519-524.

ANNEXE A

TABLEAU A. — Résultats globaux

Tests préliminaires qualitatifs effectués sur prélèvement de sang sec. Mise en évidence de l'augmentation des IgM (Technique des arcs). Recherche d'immunofluorescence indirecte (Technique Wery)

Hameaux	Recensés	Visités	IFI —		IFI douteux		IFI +	
			IgM —	IgM +	IgM —	IgM +	IgM —	IgM +
Moupépé	319	192	154	15	12	5	3	3
Moussassi	130	115	79	5	12	2	10	7
Kimpombo	424	353	295	21	18	7	4	8
Kingouala-Nsouadi	234	189	158	13	12	1	2	3
Kinkoumba-Tanga	297	247	216	15	12	4		
Pont Le Briz	114	82	77	2	2		1	
Kimbedi Bac	55	40	30	4	5		1	
	1 573	1 218	1 009	75	73	19	21	21
CIDOLOU : hommes 20/50 . .		369	346	5	15	1	1	1

ANNEXE B

Hameaux contaminés
Moupepe, Moussassi, Kimpombo, Kingouala-Nsouadi

Tranche d'âge Sexe	Recensés	Visités	IFI négatif		IFI douteux		IFI +	
			IgM —	IgM +	IgM —	IgM +	IgM —	IgM +
0-4 { H F	83	71	68	3				
	100	86	80	2	2		2	
	183	157	148	5	2		2	
5-9 { H F	94	75	66	3	2		3	1
	88	73	66	1	3			3
	182	148	132	4	5		3	4
10-14 { H F	69	57	47	1	6		1	2
	69	51	42	3	4		1	1
	138	108	89	4	10		2	3
15-19 { H F	72	36	31		3	1		1
	75	54	43	5	4			2
	147	90	74	5	7	1		3
20-29 { H F	63	38	32	1	2		2	1
	83	60	39	7	6	4	2	2
	146	98	71	8	8	4	4	3
30-39 { H F	47	31	24	2	2	1	2	
	38	30	21	2	4	2		1
	85	61	45	4	6	3	2	1
40-49 { H F	27	19	11	1	5		1	1
	56	51	36	8	5	1	1	
	83	70	47	9	10	1	2	1
50-59 { H F	30	24	15	3	1	3	1	1
	51	43	32	7	1	2		1
	81	67	47	10	2	5	1	2
60 et + { I H I F	29	24	16	1	2	1	3	1
	33	26	17	4	2			3
	62	50	33	5	4	1	3	4
TOTAL	1 107	849	686	54	54	15	19	21

ANNEXE C

Hameaux indemnes
Kimbedi Bac, Pont Le Briz, Kinkoumba-Tanga

Tranche d'âge Sexe	Recensés	Visités	IFI négatif		IFI douteux		IFI +	
			IgM —	IgM +	IgM —	IgM +	IgM —	IgM +
0-4 { H F	48	44	43		1			
	51	41	38	2	1			
	99	85	81	2	2			
5-9 { H F	35	29	28		1			
	38	32	30	1	1			
	73	61	58	1	2			
10-14 { H F	26	21	20		1			
	29	28	26	2				
	55	49	46	2	1			
15-19 { H F	22	14	14					
	21	17	14		3			
	43	31	28		3			
20-29 { H F	28	9	9					
	38	33	28	3	2			
	66	42	37	3	2			
30-39 { H F	15	10	9		1			
	27	26	19	3	3	1		
	42	36	28	3	4	1		
40-49 { H F	21	13	11	2				
	20	19	13	3	3			
	41	32	24	5	3			
50-59 { H F	13	9	7	2				
	11	9	5	1	1	1	1	
	24	18	12	3	1	1	1	
60 et + { H F	6	3	2			1		
	17	12	7	2	1	1	1	
	23	15	9	2	1	2	1	
TOTAL	466	369	323	21	19	4	2	

TECHNIQUE D'IMMUNOFLUORESCENCE DE LA TRYPANOSOMIASE

1° NOUVEAUX TRYPANOSOMÉS

N° d'ordre	Sexe Age	IFI			IgM			Suc ganglionnaire	PL		Gouttes épaisses	Filtration du sang sur cellulose	AT	Observations
		Conf.	Sérum	LCR	Conf.	Sérum	LCR		Cell.	Alb.				
Moupépe B 250	H/5	+	+	—	+	$\frac{1}{100}$	—	T0	0	0,18			État général médiocre. Adenopathie cervicale. Rate n° 2	
Moussassi D 6	F/1	+	++ $\frac{1}{50}$		f	$\frac{1}{20}$			7	0,20				
D 61	F/7	+	++ $\frac{1}{100}$	—	+	$\frac{1}{50}$	—	T+	0	0,20			Suivie pour IgM + depuis janvier 1972	
D 76	F/60	+	++ $\frac{1}{500}$	+	+	$\frac{1}{100}$	—		2	0,25			Suivie pour IgM + depuis août 1971	
D 148	H/25	+	++ $\frac{1}{100}$	—	+	$\frac{1}{100}$	—	T+						
Kimpombo AB 296	F/7	+	++ $\frac{1}{100}$	—	+	$\frac{1}{100}$	—	T+	8	0,25			Premiers examens	
AB 312	F/13	+	++ $\frac{1}{100}$	+	+	$\frac{1}{100}$	—		1	0,22	T+	T+	1 Tryp. à la goutte examiné en totalité ultérieurement	
AB 459	F/9	+	++ $\frac{1}{20}$	—	+	$\frac{1}{100}$	—	T+	2	0,20	T+	T+	Assez bon état général, ganglions cervicaux	
Kingouala-Souadi F 7	F/38	+	++ $\frac{1}{100}$	—	+	$\frac{1}{100}$		T+	1	0,22			Suivie pour IgM + depuis octobre 1971	

2° RECHUTE CHEZ DES ANCIENS MALADES TRAITÉS

N° d'ordre	Sexe Age	FAT			IgM			Suc ganglionnaire	PL		Gouttes épaisses	Filtration du sang sur cellulose	AT	Observation
		Conf.	Sérum	LCR	Conf.	Sérum	LCR		Cell.	Alb.				
<i>Moussassi</i> D 1	H/57	+	++ 1 50	+ + +	+	1 100	+		71	0,80	—	—	SC traité octobre 1971	Bon état général. Rechute le diagnostic de trypan. peut être retenu IgM dans LCR
D 57	F/39	+	++ 1 100	+ + +	+	1 100	+	TO	86	0,40	—	—	SC traité janvier 1972	Adenopathie, assez bon état. Le LCR s'est très altéré. Diagnostic de trypanosomiase
D 185	F/58	+	+++ 1 100	+ + +	+	1 100	—	TO	16	0,22	—	—	AT(P2) octobre 1971	État général médiocre, légère excitation. Hépatomégalie. Rechute ou recontamination?
D 91	H/10	+	++ 1 20	+ (+)	—	1 20	+		T+		—	—	AT (P2) août 1971	Rechute - grabataire léthargique
D 47	H/7	+	++ 1 50	+ +	—	1 50	—	TO	3	0,22	—	—	AT (P1) août 1971	Assez bon état général. Les noyaux sont fluorescents jusqu'au 1/500 dans sérum et fluorescents dans LCR

3° NOUVEAUX SUSPECTS A TRAITER

N° d'ordre	Sexe Age	FAT			IgM			Suc ganglionnaire	PL		Gouttes épaisses	Filtration du sang sur cellulose	AT	Observations
		Conf.	Sérum	LCR	Conf.	Sérum	LCR		Cell.	Alb.				
D 40	F/63	+	++ 1 50	+ + +	+	1 50	—		41	0,22	—	—		État général assez bon Suivie pour IgM + depuis août 1971
D 86	F/19	+	++ 1 100	—	+	1 100	—		0	0,40	—	—		Bon état général. Ancien IgM +. LCR normal en janvier 1972 spénomégalie 3 TD
D 224	F/55	+	++ 1 50	+ +	+	1 50	—		4	0,20	—	—		État général assez bon - RAS
<i>Moupepe</i> B 164	H/15	+	+++ 1 100	+ +	+	1 100	—	TO	0	0,20	—	—		État général médiocre. Céphalées fréquentes
D 66	F/53	—	— 1/20	+ +	+	1 100	—		1	0,22	—	—		Ancien IgM + depuis août 1971. LCR normal.