

2

**LA LUTTE CONTRE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE
AFRICAINNE**

PAR

J.L. FREZIL

DIRECTEUR DE RECHERCHE A L'ORSTOM

oct. 1990

16 NOV. 1990

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 31 421 ex 1

Cote : B

M

P22

LA LUTTE CONTRE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE AFRICAINNE

I. PRINCIPES DE LA LUTTE

Le cycle de transmission de la trypanosomiase humaine fait intervenir l'homme, la glossine, le trypanosome et l'éventuel réservoir animal.

A quel niveau convient-il d'agir pour rompre la chaîne épidémiologique ?

Le rôle prépondérant du **réservoir animal** a été largement démontré dans la Trypanosomiase à *T. rhodesiense*, notamment au niveau de la faune sauvage. Le contrôle de ce réservoir impliquerait donc soit le contrôle régulier de ces animaux (ce qui semble difficilement envisageable), soit leur abattage (ce qui semble encore moins envisageable dans les perspectives actuelles de protection de la nature, bien que cela ait été fait pour la protection de l'élevage, dans le passé).

Dans la trypanosomiase à *T. gambiense*, l'importance épidémiologique du réservoir animal n'a pas été clairement démontrée. En outre, les stratégies de lutte utilisées dans le passé, qui reposaient essentiellement sur le dépistage systématique, ont prouvé que cette affection pouvait être parfaitement contrôlée nonobstant ce paramètre.

Etant donné que le **trypanosome** est un parasite obligatoire, et donc qu'il ne peut être atteint qu'à travers ses hôtes vertébrés et invertébrés, l'effort de lutte, en l'état de nos connaissances actuelles, portera sur l'homme et la glossine.

Le choix des méthodes de lutte dépendra évidemment des conditions épidémiologiques locales, de la qualification et du personnel de santé disponible, et des moyens financiers susceptibles d'être mobilisés.

Dans la conception actuelle, la surveillance médicale régulière de la population exposée constitue la base de toute méthode de lutte. Elle sert également d'indicateur épidémiologique permettant de prévenir l'apparition de situations épidémiques. Elle présente également le gros intérêt de dépister les malades à un stade précoce, augmentant les chances de guérison. Par ailleurs, le traitement systématique des sujets infestés se traduit par une réduction du réservoir humain de la maladie, et par conséquent une atténuation de la transmission.

Le contrôle des glossines, qui permet d'interrompre la transmission pendant une période donnée, représente un des facteurs clés de la réussite d'une campagne de lutte.

Depuis quelques années, les outils susceptibles d'être utilisés dans la surveillance médicale (dépistage immuno-parasitologique) et dans la lutte antivectorielle se sont notablement diversifiés et améliorés, notamment grâce aux efforts du Tropical Disease Research Programme de l'OMS.

II. LES OUTILS DE LUTTE

II.1. LE DEPISTAGE DE LA MALADIE

II.1.1. LES SIGNES CLINIQUES.

Les signes cliniques de la maladie du sommeil ont été souvent décrits dans la littérature médicale. Rappelons les plus évocateurs : céphalées, fièvre, ganglions, prurit, crampes, troubles du sommeil, paresthésies, troubles sexuels, oedèmes, hépato-splénomégalie, anorexie, hébétude, réflexes cheiro-oraux, tremblements et excitation.

Malheureusement la plupart de ces signes peuvent également être imputés à d'autres affections en milieu tropical (paludisme, filarioses, teignes etc). En outre, les formes observées sur le terrain sont le plus souvent pauci voire a-symptomatiques. Le dépistage clinique qui garde certainement son intérêt en médecine individuelle ne saurait donc suffire à lui tout seul en campagne de masse et doit impérativement être associé au dépistage parasitologique et immunologique.

L'expérience montre toutefois que sur le terrain, les troubles du sommeil, les ganglions chez les sujets de plus de 30 ans et les oedèmes de la face chez les moins de 20 ans constituent des signes intéressants, bien que ne concernant qu'une proportion trop modeste de malades.

II.1.2. LES EXAMENS PARASITOLOGIQUES :

En campagne de masse, ces examens doivent évidemment être réservés aux suspects fournis soit par le dépistage clinique, soit par la sérologie.

Examen du sang

- Méthodes directes : les étalements de sang (frottis, gouttes épaisses, états frais) peuvent être utilisés comme premiers examens mais ces méthodes manquent évidemment de sensibilité car le taux de parasites dans le sang est extrêmement variable et le plus souvent faible.

La goutte épaisse systématique était pratiquée dans le passé, en campagne de masse, mais cette méthode demandait un personnel important pour un rendement discutable.

- Techniques de concentration : la technique la plus utilisée jusqu'à nos jours était la triple centrifugation du sang (AN. 6), qui tend aujourd'hui à disparaître au profit :

. de la centrifugation en tube capillaire dite méthode de WOO (An.7), qui consiste à examiner, après centrifugation, le niveau de séparation sang-sérum dans un tube à hématocrite, avec un objectif à grande focale.

. de la minicolonne échangeur d'anions ou MAEC (An. 5) ; cette technique est basée sur la détection des parasites après passage du sang infecté sur une colonne de diethylaminoethyl cellulose suivie d'une centrifugation. Il existe plusieurs variantes à cette technique dite de Lanham, qui reste la meilleure méthode de détection parasitologique.

La méthode de WOO et la minicolonne demandent déjà un matériel spécialisé, alors que la triple centrifugation peut être réalisée au niveau du dispensaire périphérique avec une simple centrifugeuse à main.

Ces méthodes de concentration dont la lecture se fait en général plus d'une vingtaine de minutes après la prise de sang présentent un risque d'erreur diagnostique non négligeable en zone d'endémie, celui de la confusion de trypanosome avec une exflagellation de Plasmodium.

Examen du suc ganglionnaire.

C'est la méthode classique de diagnostic de terrain qui consiste à rechercher le parasite dans le suc des ganglions localisés le plus souvent à la base du cou (An. 10) : le suc est examiné entre lame et lamelle et les parasites sont repérés par leurs mouvements. Cette méthode reste d'actualité et, par sa simplicité, représente certainement un des meilleurs moyens de diagnostic parasitologique de terrain.

Examen du liquide céphalorachidien

La ponction lombaire est couramment effectuée par les équipes mobiles sur le terrain. Elle s'adresse aux sujets parasitologiquement confirmés ou présentant une forte positivité aux tests sérologiques.

Les parasites peuvent être décelés directement pendant le comptage des cellules du LCR sur cellules de Nageotte. On peut aussi effectuer une simple (An.8) ou double (An.9) centrifugation du LCR qui donne d'excellents résultats .

Examen de la moelle osseuse

Lorsque les parasites ne peuvent être mis en évidence par les méthodes citées précédemment, il est possible de recourir à l'examen de moelle osseuse sur frottis colorés. Mais cette technique n'est pratiquement jamais utilisée sur le terrain, car trop dangereuse.

Méthodes indirectes

L'inoculation de matériel biologique provenant de suspects à des animaux sensibles (rat blanc, *Mastomys*) peut être utilisée (jusqu'à 2 CC de sang en I.P.), mais cette méthode reste plus rentable pour *T. rhodesiense* que pour *T. gambiense*. Son inconvénient majeur réside dans le délai d'apparition des trypanosomes (une semaine à deux mois).

Il existe également plusieurs possibilités de culture des trypanosomes in vitro soit à 25 ° soit (depuis peu) à 37°, mais ces méthodes délicates, peu fiables et demandant un long délai sont très peu employées comme techniques de diagnostic.

Le xénodiagnostic avec des Glossines a été (rarement) utilisé dans le passé, mais uniquement au titre de la recherche.

II.1.3. LES EXAMENS SEROLOGIQUES :

Les tests de dépistage

L'immunsérum de trypanosomé contient un ensemble complexe d'anticorps dirigés contre les antigènes trypanosomiens communs et toute une série d'antigènes variables : cette panoplie d'anticorps dépend du répertoire d'antigènes variables (VAT) du microorganisme infestant et de la durée de l'infestation.

Divers tests sérologiques permettent de révéler la présence de ces anticorps IgA, IgG, IgM.

Ces tests sérologiques sont appliqués au diagnostic de la trypanosomiase à *gambiense* comme à *rhodesiense*. Les techniques employées sont l'agglutination directe ou CATT (An.14), l'hémagglutination indirecte ou Cellognost (AN.17), l'immunofluorescence (AN. 15) et les techniques immuno-enzymatiques (ELISA). Certains de ces systèmes ont été adaptés en vue de leur utilisation sur le terrain (comme le CATT) et sont actuellement utilisés dans les enquêtes de masse consacrées à la Trypanosomiase à *T. gambiense*. Les méthodes acceptant des prélèvements de sang sec ou confettis (An.16), comme la méthode d'immunofluorescence indirecte restent d'un grand secours.

La fiabilité des tests sérodiagnostiques devra encore être améliorée grâce à une standardisation correcte des réactifs et des modes opératoires. Dans les conditions optimales, les tests de dépistage des anticorps se positivent dans les deux à trois semaines qui suivent l'infestation et le restent jusqu'aux stades tardifs de la parasitose. Dans tous les cas on peut prévoir un faible pourcentage de faux positifs, mais les choses se compliquent avec la Leishmaniose viscérale qui donne de fortes réactions croisées avec l'antigène trypanosomien commun.

II.1.4. CONSERVATION DES STOCKS DE PARASITES.

L'enquête épidémioparasitologique peut amener à s'interroger sur le parasite incriminé, en outre certains tests sérologiques (comme l'IFI) impliquent l'élaboration d'antigène trypanosomien. Comment donc isoler et conserver les parasites?

Le procédé le plus simple est l'inoculation du sang de malades aux rongeurs de laboratoire. L'entretien des stocks se faisant par repiquage des parasites prélevés au bout de la queue du rat donneur et injectés en I.P. au rat receveur. Les stocks peuvent ainsi servir pratiquement indéfiniment pour les tests sérologiques mais perdent progressivement leur intérêt pour les recherches de laboratoire. Dans ce dernier cas il convient donc de les congeler pour préserver leurs caractéristiques originelle.

La cryoconservation constitue une technique fiable pour conserver les trypanosomes à l'état viable en vue d'études prolongées au laboratoire. Elle a l'avantage de conserver intactes les propriétés du parasite sur le plan de l'infectiosité, de la pharmacorésistance et l'immunologie.

Les Trypanosomes sont conservés à une température inférieure à leur point de congélation biologique, soit à -70° dans la glace carbonique, soit à -196° dans l'azote liquide. Si la cryoconservation est courante dans les études de laboratoire, la technique employée dans chaque cas est souvent arbitraire, et il conviendrait que les techniques soient enfin normalisées.

II.1.5. LA RECHERCHE DU PARASITE CHEZ LA GLOSSINE

La recherche du trypanosome chez la glossine présente un intérêt épidémiologique certain, notamment pour déterminer l'espèce vectrice mais représente une opération longue et fastidieuse.

Chez la Glossine, les parasites peuvent être détectés par la dissection des glandes salivaires. La mise en évidence de parasites dans l'intestin moyen ou les pièces buccales n'est pas forcément liée à la Trypanosomiase humaine car des parasites d'animaux s'y développent aussi (*T. vivax*, *T. congolense* du bétail, *T. grayi* du crocodile).

Les infections des glandes salivaires se rencontrent rarement sur le terrain, même dans les foyers très actifs. De plus, certains chercheurs auraient réussi à infecter des animaux de laboratoire avec des Glossines infectées, mais apparemment dépourvues de Trypanosomes dans les glandes salivaires. Il est donc possible que les enquêtes de terrain laissent échapper bon nombre de mouches infectées. L'inoculation de lots de glandes salivaires à des animaux sensibles pourrait représenter une alternative plus intéressante.

On attend beaucoup des techniques d'hybridation de l'ADN récemment mises au point pour l'identification des Trypanosomes chez la glossine.

II.2. LA LUTTE CONTRE LES GLOSSINES

La stratégie de lutte qui a jusqu'à présent été employée dans les foyers de Maladie du Sommeil était surtout basée sur le dépistage des malades et la chimioprophylaxie de masse, la lutte contre le vecteur étant le plus souvent laissée de côté. Les raisons de cette attitude se trouvent d'une part dans le manque ou la faiblesse d'équipes spécialisées, mais aussi dans le prix de revient très élevé des opérations antiglossines. Le plus souvent, les campagnes visant au contrôle des glossines d'une région se sont soldées par un échec : à plus ou moins long terme, les mouches réenvahissent les zones traitées car leur surveillance représente un travail de longue haleine, délicat et onéreux. C'est pourquoi les recherches se sont orientées vers des méthodes de lutte simples, efficaces et peu coûteuses, à la mesure des populations rurales.

II.2.1. LES DIFFERENTES METHODES DE LUTTE

La lutte physique

- **l'éclaircissement forestier** : cette méthode imaginée par ROUBAUD en 1909 consiste à éclaircir la végétation pour changer notablement l'ambiance atmosphérique des microclimats favorables à la vie et la reproduction des Glossines.

Dans le passé, plusieurs variantes ont été utilisées depuis l'élagage sélectif du sous bois jusqu'à l'abattage total de la végétation. Inutile de préciser que cette dernière méthode, qui représente un désastre écologique, doit être impérativement écartée.

Actuellement, ces éclaircissements ne sont éventuellement pratiqués qu'aux alentours des villages ou des ponts. Les déboisements intensifs, préconisés jadis autour des zones assainies, se pratiquent de moins en moins compte tenu des nouvelles acquisitions sur les distances de vol des glossines (+ de 20 km).

Il est à noter qu'un éclaircissement mal fait peut avoir un effet inverse de celui escompté (concentration des glossines en certains endroits et augmentation de la transmission ou élargissement du champ de vision des tsétsé et augmentation de l'agressivité).

- **l'abattage du gibier** : le principe est d'éliminer toute la faune susceptible de nourrir les glossines. Cette méthode criminelle a été utilisée jusque dans les années 60 en Afrique de l'est. Elle est non seulement critiquable sur le plan de l'écologie, mais encore sur son efficacité : les zones "traitées" ont été rapidement réenvahies par la faune, et, dans l'intervalle, les glossines qui avaient perdu leurs hôtes animaux se nourrissaient sur l'homme et les animaux domestiques, augmentant ainsi les chances de transmission.

- **la capture des glossines** : la glossine est un insecte qui se reproduit assez mal puisqu'au lieu de pondre des oeufs en grande quantité comme beaucoup d'autres diptères, elle "accouche" d'une seule larve tous les 10 jours. C'est ce qui explique que, dans certaines conditions (gîtes isolés), la simple capture des glossines au filet ait pu être suffisante pour les éliminer, à condition bien sûr que cette capture soit suffisamment répétée dans le temps.

L'autre exemple classique est celui de l'Ile du Prince, où vers les années 1915, l'éradication des glossines a pu être obtenue d'une part en abattant les porcs, et d'autre part en faisant promener dans les gîtes des hommes portant des carrés d'étoffe noire enduite de glu (rappelons que les glossines sont très attirées par les couleurs sombres).

Un autre moyen de capturer ou détruire les glossines est le piégeage. Le premier piège à glossine a été créé par HARRIS en 1930 et depuis beaucoup de modèles ont été imaginés par les chercheurs, sans que leur efficacité justifie leur emploi systématique dans les campagnes de lutte.

Des chercheurs de l'ORSTOM, CHALLIER et LAVEISSIERE (1973) ont mis au point un nouveau système de piégeage (AN.19 et 20) qui constitue certainement le progrès le plus décisif enregistré au cours de ces vingt dernières années en matière de lutte contre les glossines. Le principe de ce piège est d'utiliser simplement un contraste de couleurs attractives (bleu électrique et noir) pour attirer ces insectes et les capturer dans un système de nasse. Ce piège est d'ailleurs parfaitement "écologique" puisqu'il ne capture pratiquement que des glossines.

Il a actuellement été essayé avec succès dans pratiquement tous les pays concernés par la Maladie du Sommeil. Son action peut être renforcée par imprégnation d'insecticides (decaméthrine à 400 mg de matière active) qui permet d'éliminer aussi les mouches qui se posent simplement sur le piège et repartent.

En République Populaire du Congo ce procédé a été utilisé dans le Niari (Kinzaba) et dans le foyer du Couloir (Kouzoulou). En un an, l'élimination a pratiquement été obtenue dans ces deux localités. Fait remarquable, l'action permanente du piège a pour effet de stopper les réinvasions, et donc empêcher la reconstitution des populations de glossines, comme cela a été observé sur les rives du fleuve Congo.

Si le piégeage des glossines a largement prouvé son efficacité dans le cadre de la lutte contre les glossines riveraines (groupe *palpalis*) qui, comme leur nom l'indique, sont concentrées dans les galeries forestières ou autres formations arborées, il n'en est pas de même avec les glossines de savane (groupe *morsitans*), par trop dispersées dans la nature. La tendance actuelle est donc de rechercher des attractifs olfactifs susceptibles d'améliorer le piégeage.

En Afrique de l'ouest, de simples écrans (An.21) de 1m² de tissu bleu imprégnés d'insecticide (75 mg de matière active par m²), suspendus à des potences, ont également prouvé leur efficacité dans les plantations ou les galeries forestières, en détruisant les 3/4 des glossines en moins de trois mois.

Le piègeage est une méthode qui offre l'énorme avantage d'être simple et non polluante. Les populations rurales sont impressionnées et donc respectent cet appareil qui contribue à leur tranquillité. A titre anecdotique, les villageois congolais protestent toujours énergiquement lorsqu'on veut retirer les pièges, et les habitants des villages voisins non traités demandent sans cesse l'implantation de pièges dans leur localité : il n'est pas de meilleure preuve de l'efficacité de ce mode de lutte !

La conception de la lutte antiglossines par piègeage s'inscrit parfaitement dans le cadre de la politique des soins de santé primaire : c'est un outil peu onéreux, simple à fabriquer et parfaitement à la portée des populations rurales. Des équipes de l'ORSTOM essaient d'ailleurs actuellement d'organiser des campagnes de lutte soutenues par les villageois. Mais les premiers résultats sur l'acceptabilité du piège sont contradictoires et sont surtout fonction du degré d'imprégnation des notions de santé et de la motivation des "leaders" politiques ou traditionnels.

Plusieurs modèles de piège plus ou moins dérivés du piège de CHALLIER - LAVEISSIERE, faisant varier les formes et les associations de couleur, sont actuellement disponibles (CHALLIER et al., 1977; LAVEISSIERE et al., 1979; LANCIEN, 1981; GOUTEUX et LANCIEN, 1986; LAVEISSIERE et al., 1987 c).

Il en est de même pour les écrans (LAVEISSIERE et COURET, 1981; MEROT et al., 1984; LAVEISSIERE et al., 1987 a).

Une excellente synthèse sur le piègeage des glossines est en cours de publication (CUISANCE, 1989).

La lutte biologique

Quelques tentatives de lutte biologique avec des insectes parasites ont été tentées dans le passé, et notamment avec *Syntomosphyrum glossinae* (Hyménoptère) mais sans grand succès. Aucun essai n'a par contre été réalisé avec d'autres insectes parasites connus comme *Mutilla* (Hyménoptères) ou *Exhyalanthrax* (Diptère *Bombylidae*), ni d'ailleurs avec d'autres prédateurs naturels ou pathogènes (bactéries ou champignons).

Les méthodes génétiques

Curieusement, ces méthodes sont généralement classées dans la rubrique "lutte biologique". La seule méthode de lutte génétique actuellement envisagée est la méthode dite "du mâle stérile". Elle consiste à relâcher dans la nature des mâles d'élevage stérilisés par irradiation, qui iront s'accoupler aux femelles sauvages. Comme les femelles ne sont (théoriquement) fécondées qu'une fois dans leur existence, cet accouplement aura effet de stériliser les femelles à leur tour.

Cette méthode est en théorie très satisfaisante, et des expérimentations en Haute Volta et en Tanzanie ont prouvé qu'elle était possible.

Son utilisation est toutefois conditionnée par l'existence d'un élevage important de glossines (dont le coût est très élevé !). Il faut en effet que les mâles lâchés puissent entrer en compétition avec les mâles sauvages. On peut donc prédire que cette méthode ne pourra être utilisée que dans des conditions particulières et sur des surfaces limitées ; par exemple pour exterminer des populations de glossines déjà réduites par une autre méthode plus classique.

La lutte chimique

Les campagnes de lutte chimique impliquent une bonne connaissance du vecteur, dans les domaines de la bioécologie et de la reproduction.

Etant donné qu'il n'a pour le moment jamais été observé de résistance des glossines vis à vis d'un insecticide quelconque, l'éventail des produits disponibles est assez large. Il est cependant limité par leur action sur la faune non cible et leur possibilité d'élimination naturelle : le DDT, non biodégradable, est actuellement interdit au profit d'autres composés (Endosulfan, Decamethrine, etc...) jugés moins dangereux pour l'espèce humaine.

Après reconnaissance des gîtes et calcul de la concentration convenable de produit actif, l'épandage peut se faire soit au sol à l'aide d'atomiseur à main ou à moteur, soit par voie aérienne, par avion ou hélicoptère. De réels progrès ont été réalisés dans l'épandage aérien, par la mise au point d'atomiseurs permettant le calibrage des gouttelettes et l'épandage régulier du produit.

Toutefois ces méthodes aériennes ont un prix de revient très élevé et demandent un support logistique impressionnant. Les résultats sont souvent compromis par les phénomènes d'ascendance atmosphérique et rendus discutables par les effets sur la faune non cible.

Enfin, il faut pouvoir assurer la surveillance épidémiologique de la zone traitée après le passage de l'équipe spécialisée.

LES INSECTICIDES DISPONIBLES (LAVEISSIERE, 1988) :

"Parmi les familles d'insecticides, seules deux ont été retenues pour leurs qualités pour la lutte contre les glossines :

- les organochlorés :

DDT (OMS 16) : ce composé particulièrement stable et peu onéreux possède une rémanence exceptionnelle pouvant atteindre une année sur des troncs d'arbres à l'abri de la lumière. Cependant, non biodégradable, il s'accumule chez les invertébrés et les vertébrés tout au long de la chaîne alimentaire et ne peut plus être recommandé.

Dieldrine (OMS 18) : ce produit a presque les mêmes caractéristiques que le DDT, son coût plus élevé est compensé, pour les régions à forte pluviosité, par une meilleure rémanence; hautement toxique pour les mammifères, la Dieldrine, comme le DDT est de moins en moins utilisée et doit être employée avec précaution.

Endosulfan (OMS 570) : moins rémanent que les deux premiers insecticides, l'Endosulfan est cependant plus efficace sur les glossines et plus soluble, ce qui permet son utilisation à faibles doses avec des gouttelettes plus fines. Sa toxicité, plus faible, n'est cependant pas à négliger.

- les pyréthrinoïdes de synthèse :

Les pyrétrinoïdes de synthèse, apparus relativement récemment sur le marché, n'ont pas encore été utilisés aussi largement que les précédents; de nouvelles formulations et même de nouveaux composés sont sans cesse créés : perméthrine, cyperméthrine, alfacyperméthrine, cyfluthrine et surtout, le plus employé, la deltaméthrine.

Deltaméthrine (OMS 1998) : l'un des insecticides les plus toxiques, même à très faible dose, pour les tsé-tsé. Moins rémanent (photodégradable) et plus cher que les organochlorés, il possède néanmoins des qualités indiscutables : biodégradabilité, très faible toxicité pour les mammifères, faible volatilité.

Les doses léthales moyennes (en ng/glossine) pour chacun de ces quatre produits sont (HADAWAY et al., 1977) : DDT = 85; Dieldrine = 10; Endosulfan + 7; Deltaméthrine = 0,08.

Chacun des produits énumérés ci-dessus peut être utilisé sous diverses formulations selon la technique d'épandage et les caractéristiques climatiques des zones à traiter. Nous n'énumérons ci-dessous que les formulations les plus couramment utilisées.

Poudre mouillable : poudre très fine comprenant la matière active (de 50 à 75%), de l'argile ou de la silice pulvérisée, un dispersant pour homogénéiser la suspension après dilution dans l'eau. Formulation peu onéreuse, relativement stable, à utiliser en saison sèche compte tenu de sa vulnérabilité en saison des pluies.

Concentré émulsifiable : la matière active (entre 10 et 50%) est dissoute dans un solvant organique avec un émulsifiant donnant un mélange stable avec l'eau. Plus cher que la poudre mouillable, mais aussi d'un emploi plus aisé, le concentré émulsifiable est recommandé pour les traitements en région humide ou durant la saison des pluies.

Solution pour ULV (Ultra Low Volume) : ces solutions dispensent de dilution dans l'eau, ce qui représente un avantage (inaccessibilité des points d'eau, transports etc.), mais exige l'utilisation d'un matériel approprié. La matière active (plus de 35%) est dissoute dans un solvant spécial, peu volatil, qui favorisera le passage de l'insecticide à travers la cuticule de l'insecte. Le produit est pulvérisé sous forme de très fine gouttelettes (20-40 microns) formant un aerosol dans lequel seront prises les glossines."

Le traitement de la végétation (généralement entre 0 et 2 m) sera effectué de préférence en début de saison sèche pour que la rémanence couvre l'intervalle de temps séparant deux pupaisons (30 à 40 jours)

3. L'ORGANISATION DE LA LUTTE.

- au niveau de l'éducation pour la santé

Dans beaucoup de pays d'Afrique, la lutte contre la Maladie du Sommeil se heurte aux croyances traditionnelles.

La façon insidieuse dont se développe la trypanosomiase dans le foyer, la lente dégradation physique, psychique et intellectuelle des malades, le fatalisme naturel des populations, mais peut être aussi une certaine méfiance pour le dispensaire et la longueur du traitement, font que les trypanosomés consultent plutôt le féticheur que le médecin. Il semblerait cependant que le degré de confiance pour les services médicaux soit (tout à fait logiquement) fonction de l'efficacité et de la rapidité des soins.

Quoiqu'il en soit, les services sanitaires ne voient arriver le plus souvent qu'un très faible proportion de malades, le plus souvent dans un état très grave.

Ce comportement des populations fait que la trypanosomiase ne peut être combattue efficacement que par une équipe mobile qui va sur place chercher les malades.

Il explique aussi l'absentéisme parfois important aux séances de dépistage et le fait que les villageois cachent souvent leurs malades, même grabataires. Paradoxalement, ce sont les gens qui se sentent bien portants qui se présentent le plus volontiers!

Il explique enfin pourquoi la découverte des zones épidémiques suit toujours le même schéma : un malade ou deux, d'un village donné, viennent spontanément se faire soigner au secteur des Grandes Endémies et l'enquête épidémiologique qui suit permet de découvrir une centaine de cas dans le village. En fait, les sommeilleux qui viennent d'eux mêmes en consultation ne représentent que la partie émergée de l'iceberg.

Ces considérations mettent en exergue l'intérêt majeur de l'éducation pour la santé en zone d'endémie.

Cette éducation pour la santé doit se faire à tous les niveaux possibles :

- équipes mobiles qui doivent justifier leur action (affiches recommandées si population alphabétisée)
- scolaire : inclure des informations sur la maladie du sommeil dans les programmes
- média : TV, presse écrite et surtout émissions radio.

Le contenu de cette éducation doit expliquer l'histoire naturelle de la maladie (pour que les malades reconnaissent notamment les symptômes), mettre l'accent sur le rôle vecteur des glossines, préciser les lieux de contamination potentiels, les moyens de limiter les contacts avec les vecteurs (vêtements clairs, heures favorables de fréquentation des marigots, en évitant les heures chaudes de la journée), les possibilités de lutte antivectorielle notamment par éclaircissement de la végétation des gîtes, la lutte insecticide simple et le piègeage des glossines.

- au niveau des équipes mobiles de santé.

Comme nous l'avons dit plus haut et jusqu'à preuve du contraire, l'équipe mobile représente la meilleure formule pour lutter efficacement contre la THA.

L'efficacité d'action de cette équipe mobile variera toutefois énormément en fonction des moyens humains et matériels mis en oeuvre, et notamment en fonction de l'utilisation des techniques sérologiques et des techniques de dépistage parasitologique modernes.

Il faut toutefois constater que dans la plupart des pays concernés, les équipes mobiles ne sont plus spécialisées pour la lutte contre la THA (vaccinations). Elles sont donc bien moins efficaces que dans le passé.

1er cas : l'équipe ne possède aucun outil de dépistage immunologique ni parasitologique.

Le dépistage repose alors uniquement sur la ponction ganglionnaire et la recherche de signes cliniques évocateurs (voir schéma STANGHELLINI et DUVALLET, An.1)

La confirmation de la maladie sera apportée par goutte épaisse ou par triple centrifugation du sang (qui peut se faire avec une centrifugeuse à main sur le terrain ou au dispensaire le plus proche). Inutile de dire que cette méthode, qui représente pourtant celle qui était classiquement employée dans le passé, laissera échapper la plupart des malades et dépistera surtout les cas en deuxième période. Elle peut pourtant être d'une certaine efficacité si elle est fréquemment répétée.

2ème cas : le service de santé dispose d'un laboratoire IFI central.

Rappelons en effet que l'état des routes en Afrique centrale est difficilement compatible avec l'emploi d'un laboratoire mobile.

Dans ce cas, on peut déjà envisager de faire un travail efficace (voir schéma AN.2), à condition que le recensement de la population soit correct.. L'enquête est alors scindée en deux temps : une première équipe se rend sur le terrain et fait les prélèvements de sang sec (confettis), qui sont examinés en IFI au laboratoire central. Une deuxième équipe retourne sur le terrain avec les résultats et s'intéresse essentiellement aux suspects sérologiques. Outre la ponction ganglionnaire, cette équipe pratiquera ou la minicolonne ou la centrifugation en tube capillaire. Si le trypanosome n'est pas trouvé chez des sujets fortement positifs une ponction lombaire pourra être envisagée (si cet acte ne s'oppose pas avec l'éthique en vigueur), ou un autre test sérologique le cas échéant.

Les sujets sans parasite visibles présentant soit une confirmation par un autre test sérologique, soit une PL altérée seront traités : les premiers comme des malades en P1 (sans risque majeur pour le malade = Pentamidine), les autres comme des malades en P2.

Les suspects sérologiques à un seul test seront revus au cours de l'enquête suivante.

3. L'équipe dispose du CATT.

Dans les conditions idéales (équipe disposant en outre de l'IFI, tests de WOO et MAEC) on pourra adopter le schéma proposé (An.3). La prospection se fera également en 2 temps, mais ici l'action essentielle est réalisée au cours de la première prospection, la deuxième enquête qui ramènera les résultats de l'IFI ne représentera qu'un contrôle.

Dans ce schéma, le test CATT représente la base de la prospection : les positifs subiront deux examens parasitologiques pour confirmation et enfin une PL qui précisera la conduite à tenir en matière de traitement.

Les sujets qui seront uniquement positifs au CATT, sans confirmation IFI et sans PL altérée, seront mis en observation.

Tous les autres positifs seront traités en fonction de l'altération du LCR.

Dans le cas d'équipes disposant de moyens limités on pourrait imaginer le traitement systématique à la Pentamidine de tous les positifs au CATT (sans autre confirmation, ni PL). Cette formule présente l'inconvénient majeur de traiter à la Pentamidine des malades en P2 qui vont évoluer à bas bruit.

Il est vivement recommandé d'associer une **campagne de lutte antiglossines** par piègeage ou écrans à la prospection. En un minimum de temps et avec le concours actif de la population, ces outils seront placés dans les lieux de contamination . Ils resteront évidemment en place au départ de l'équipe et les responsables du village devront veiller à leur sauvegarde et entretien.

- au niveau du dispensaire

Si l'infirmier ne possède pas de tests sérologiques, il pourra tout de même identifier les signes cliniques majeurs et peut être rechercher le parasite dans le sang (goutte épaisse - triple centrifugation) ou les ganglions . Une solution minimale serait également de lui fournir du papier filtre pour prélèvement de sang sec qu'il enverra au centre spécialisé pour analyse.

S'il dispose du CATT il pourra lui même identifier les suspects sérologiques et poursuivre le cas échéant par des examens parasitologiques.

Dans tous les cas les suspects seront ensuite évacués vers un centre spécialisé.

- au niveau des soins de santé primaire

Un ou plusieurs membres du comité d'hygiène pourront être formés pour identifier les signes cliniques les plus évocateurs : ganglions du cou chez l'adulte, fièvre persistante rebelle aux antimalariques, oedèmes chez les jeunes, troubles du sommeil, amaigrissement suspect etc.

Les suspects seront dirigés vers un centre spécialisé.

Le comité d'hygiène sera également formé pour la lutte antiglossine : éclaircissement, lutte insecticide (surtout si les villageois possèdent des atomiseurs pour traiter les cultures) et lutte par piègeage (au minimum emploi et entretien des pièges fournis par l'état).

Pour éviter le développement des populations de glossines, les parcs à animaux et notamment à porcs pourront être éloignés du village.

Remarque : Tous les termes sont possibles entre les situations extrêmes évoquées, et dépendront du niveau de l'endémie, des possibilités en matière de lutte et du code déontologique en vigueur ; l'éternelle question étant : faut-il ou non traiter les suspects immunologiques non confirmés parasitologiquement.

SOURCES ET REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- Anonyme, 1986. - La trypanosomiase africaine: épidémiologie et lutte.
OMS - Genève, Ser. rapp. techn., n° 739.
- Anonyme, 1983. - Manuel pour la lutte contre la trypanosomiase .
OMS - Genève, Edition expérimentale.
- CHALLIER (A.), EYRAUD (M.), LAFAYE (A.) & LAVEISSIERE (C.), 1977.- Amélioration du rendement du piège biconique pour Glossines (Diptera, Glossinidae) par l'emploi d'un cône inférieur bleu.
Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., XVI : 5 - 15.
- CHALLIER (A.) & LAVEISSIERE (C.), 1973.- Un nouveau piège pour la capture des glossines (*Glossina* : Diptera, Muscidae) : descriptions et essais sur le terrain.
Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., XI : 251 - 262.
- CUISANCE (D.), 1989. - Utilisation des pièges et écrans dans la lutte contre les glossines.
Etudes et synthèses de l'IEMVT (sous presse).
- LANCIEN (J.), 1981.- Description du piège monocônique utilisé pour l'élimination des glossines en République populaire du Congo.
Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., XIX : 235 - 238.
- LAVEISSIERE (C.), 1988.- Les glossine . Guide de formation et d'information.
OMS, ser. lutte antivectorielle, Division BVL.
- LAVEISSIERE (C.) & COURET (D.), 1981.- Essai de lutte contre les glossines riveraines à l'aide d'écrans imprégnés d'insecticide.
Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., XIX : 271 - 283.
- LAVEISSIERE (C.), COURET (D.) & CHALLIER (A.), 1979.- Description and design details of a biconical trap used in the control of tsetse flies along the banks of rivers and streams.
WHO/VBC/79.746 : 17 p.
- LAVEISSIERE (C.), COURET (D.) & GREBAUT (P.), 1987 .- Recherche sur les écrans pour la lutte contre les glossines . Mise au point d'un nouvel écran.
Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., (sous presse).

- LAVEISSIERE (C.), GREBAUT (P.) & COURET (D.), 1987 c.- Recherches sur les pièges pour la lutte contre les glossines vectrices de trypanosomes humains en Côte d'Ivoire. Cah. ORSTOM, Ser. Ent. Méd. Parasitol., (sous presse).

- LAVEISSIERE (C.) & HERVOUET (J.P.), 1987.- Epidémiologie et contrôle de la trypanosomiase humaine en Afrique de l'Ouest. Etudes et thèses ORSTOM (sous presse).

- GOUTEUX (J.P) & LANCIEN (J.), 1986 .- Le piège pyramidal à tsé-tsé (Diptera, Glossinidae) pour la capture et la lutte . Essais comparatifs et description de nouveaux systèmes de capture. Trop. med. Parasit., 37 : 61 - 66.

- FREZIL (J.L.), 1983. - La Trypanosomiase Humaine en République Populaire du Congo. Trav.et Doc de l'ORSTOM, n° 155.

- ITARD (J.) , 1986. - Les glossines ou mouches tsé-tsé. Etudes et synthèses de l'IEMVT, n°15.

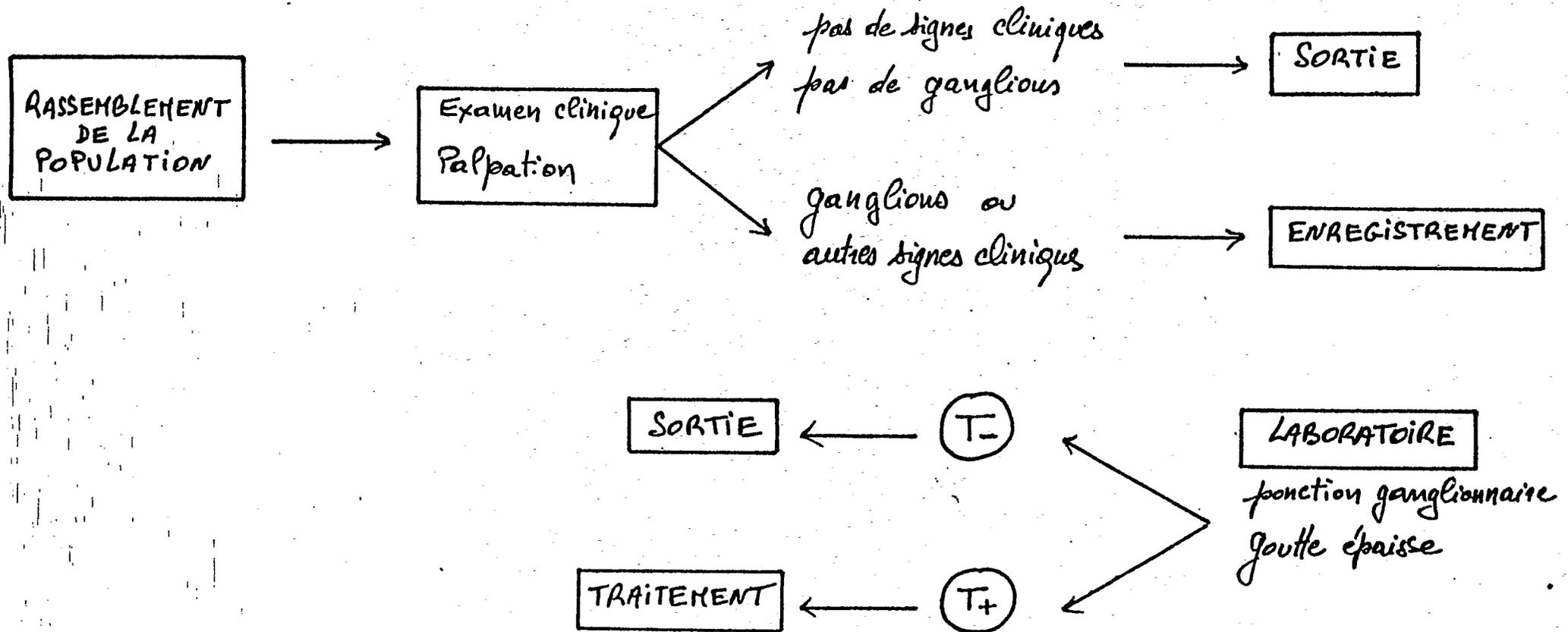
- MEROT (P.), POLITZAR (H), TAMBOURA (I.) & CUISANCE (D.), 1984 .- Résultat d'une campagne de lutte contre les glossines riveraines au Burkina Faso par l'emploi d'écrans imprégnés de deltaméthrine. Rev. Elev. méd. vet. Pays trop.,37 : 175 - 184.

- STANGHELLINI (A.) & DUVALLET (G), non daté. - Guide pratique pour le dépistage de la trypanosomiase humaine africaine. Centre MURAZ, OCCGE, B.P. 153, Bobodioulasso.

Lutte contre la THA

ANNEXES

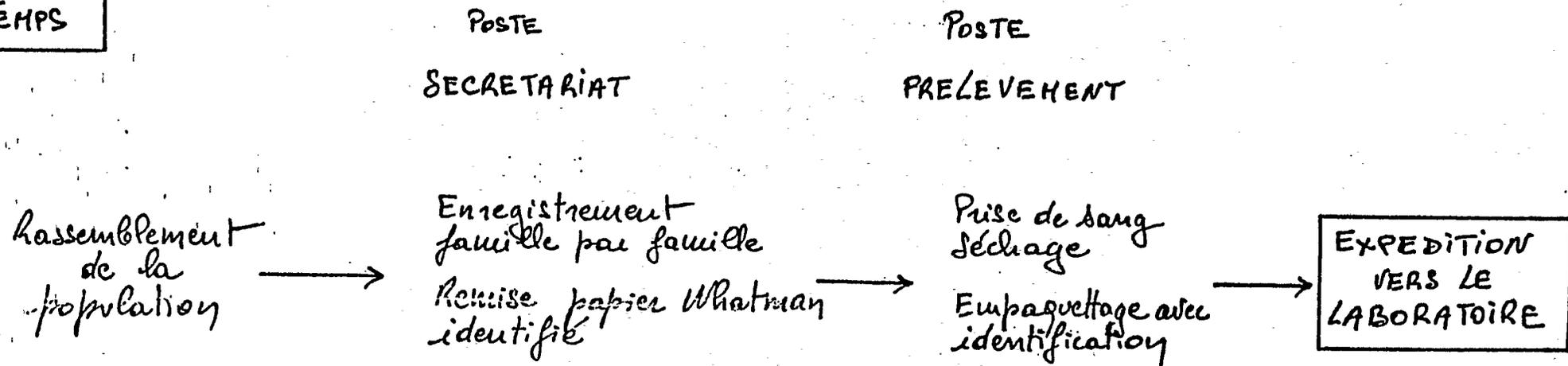
EQUIPE CLASSIQUE



- STANGHELLINI (A.) & DUVALLET (G), non daté. - Guide pratique pour le dépistage de la trypanosomiase humaine africaine. Centre MURAZ, OCCGE, B.P. 153, Bobodioulasso.

EQUIPE DISPOSANT D'UN LABORATOIRE IFI A PROXIMITE

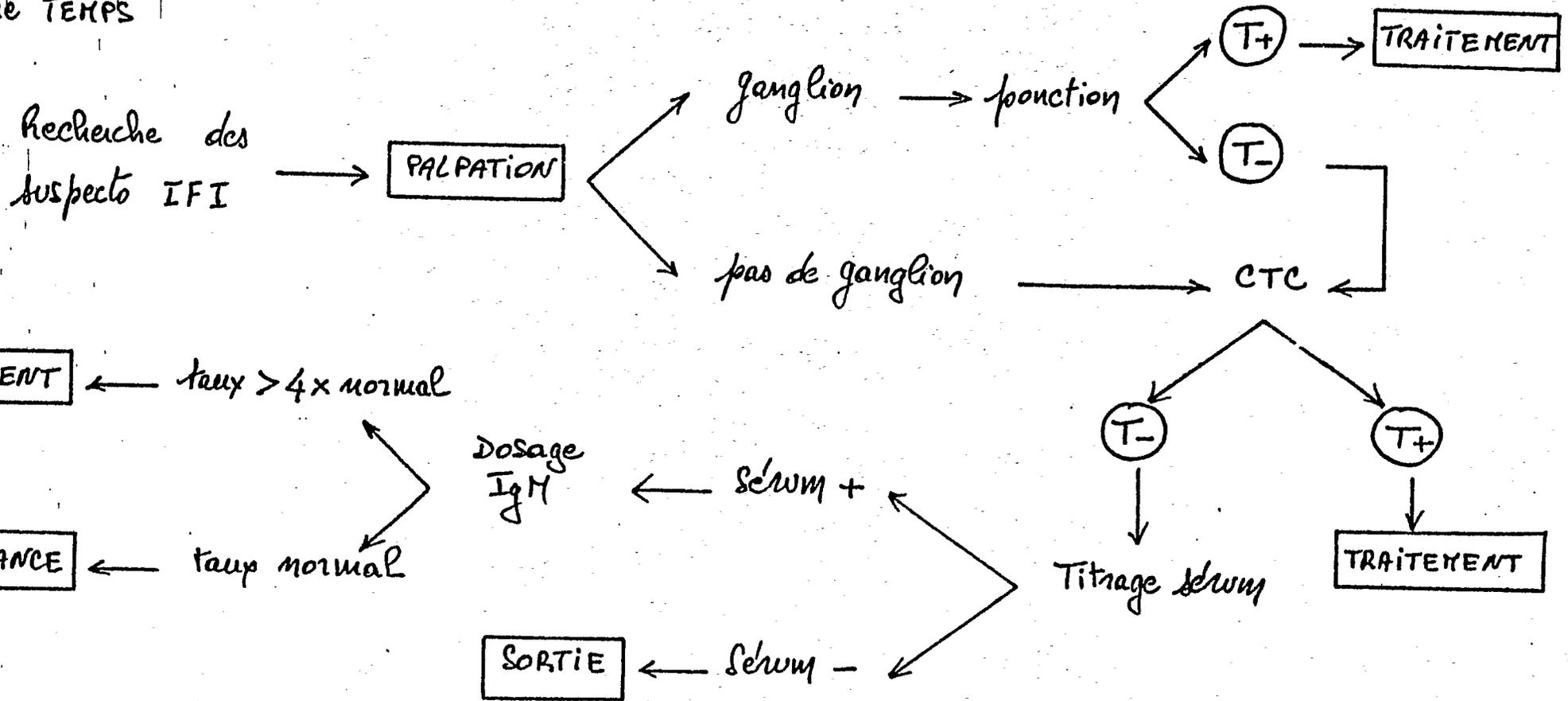
Sur TEMPS



- STANGHELLINI (A.) & DUVALLET (G), non daté. - Guide pratique pour le dépistage de la trypanosomiase humaine africaine. Centre MURAZ, OCCGE, B.P. 153, Bobodioulasso.

EQUIPE DISPOSANT D'UN LABORATOIRE IFI A PROXIMITE

2ème TEMPS

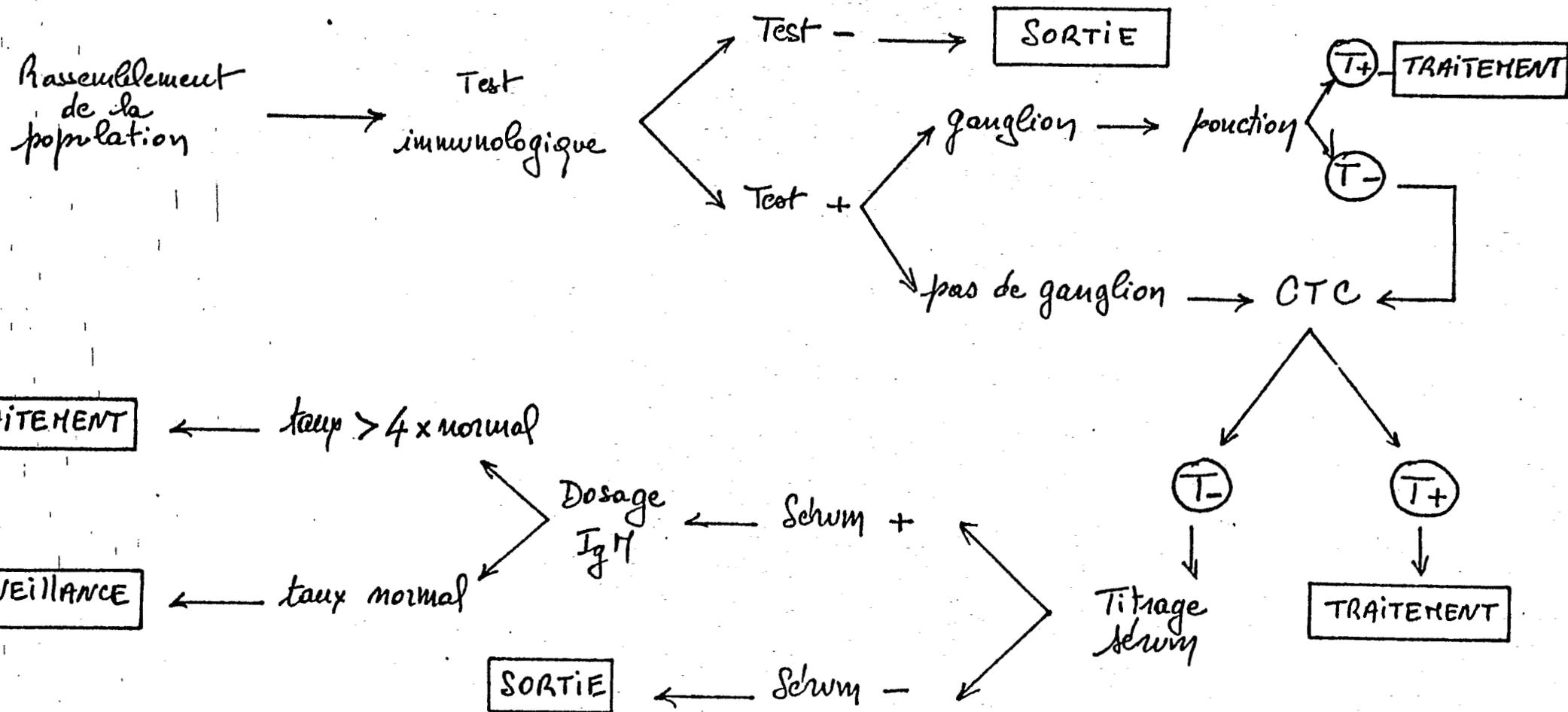


T+ : présence de trypanosomes

T- : absence de trypanosomes

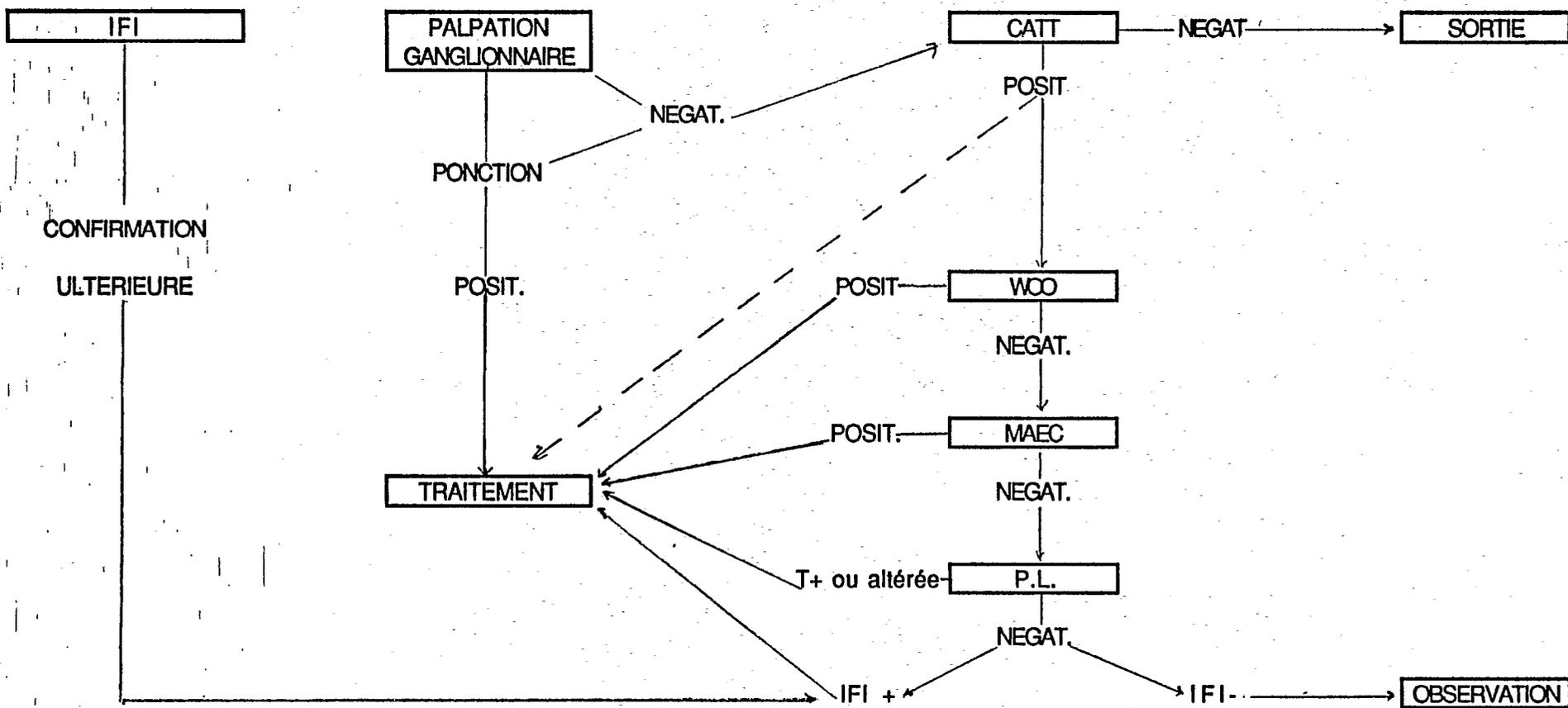
CTC : Centrifugation en tubes capillaires

EQUIPE DISPOSANT DE TROUSSES IMMUNOLOGIQUES



- STANGHELLINI (A.) & DUVALLET (G), non daté. - Guide pratique pour le dépistage de la trypanosomiase humaine africaine.
 Centre MURAZ, OCCGE, B.P. 153, Bobodioulasso.

EQUIPES DISPOSANT DU CATT + IFI



La technique de la mini-colonne stérile échangeuse d'ions

Le m-AECT : mini-Anion Exchange Centrifugation Technique (en français : technique de la mini-colonne échangeuse d'ions) est l'épreuve la plus sensible pour mettre en évidence les trypanosomes dans le sang humain. Le parasite peut être trouvé rapidement et avec un minimum de difficultés. La colonne stérile préparée en trousse au laboratoire n'a pas besoin d'être conservée au réfrigérateur. Une fois ouverte, la colonne et le tampon doivent être utilisés immédiatement. Il faut prendre soin de jeter tout le matériel usagé dans une solution désinfectante (par exemple eau à 2 % d'eau de javel).

Matériel

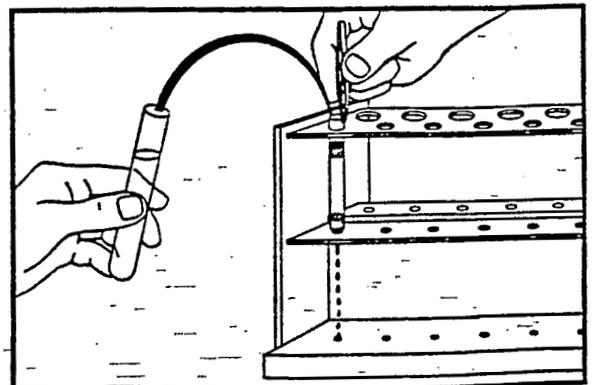
La trousse doit contenir le matériel nécessaire à la réalisation d'un test.

- colonne stérile dans un tube de verre
- tube de glucose prépesé
- tube Caraway hépariné pour le prélèvement du sang
- lancette
- réservoir et tube de centrifugation
- pipette plastique pour le tampon

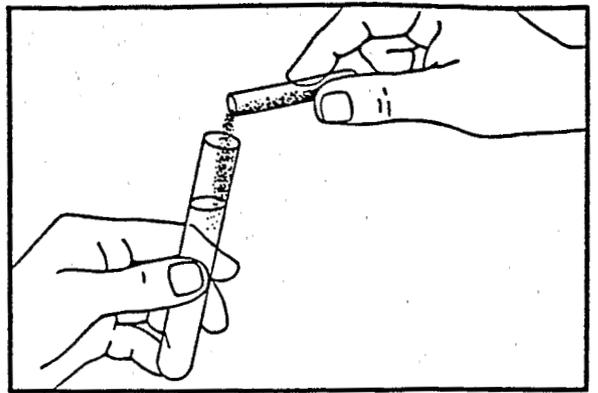
Matériel complémentaire :

- une centrifugeuse manuelle
- un portoir à colonne
- un bon microscope permettant un grossissement jusqu'à 150 x (e.g. objectif 10 x multiplicateur 1,5 x, oculaire 10 x)
- lames et lamelles de verre standard pour microscope, ruban adhésif et pâte à modeler pour la fabrication de la chambre de lecture.

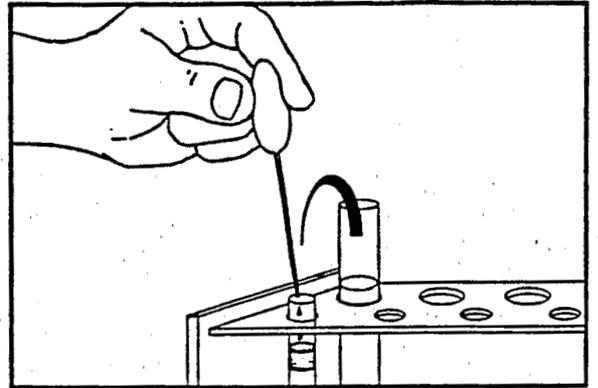
Sortir la colonne de son tube et la placer sur le portoir, laisser la colonne s'écouler totalement.



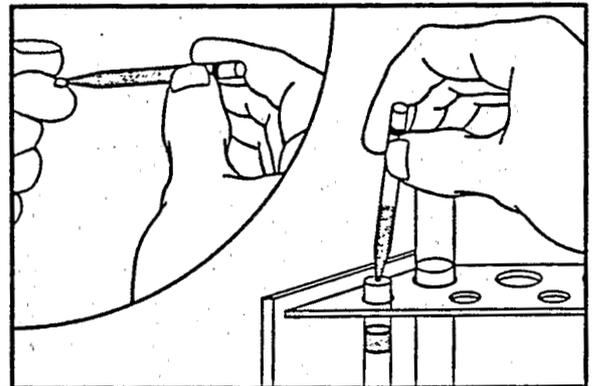
Ajouter le glucose (G) au tampon (PBS) restant dans le tube, bien mélanger et placer le tube derrière la colonne à l'arrière du portoir.



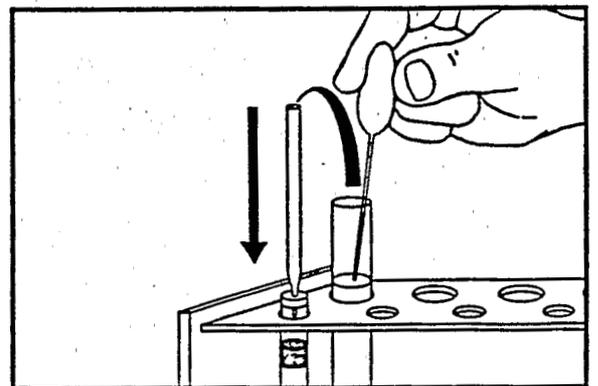
Avec la pipette, remplir la colonne de tampon salin glucosé (PBSG) et laisser la colonne s'écouler. Répéter l'opération. Le reste du tampon servira ultérieurement.



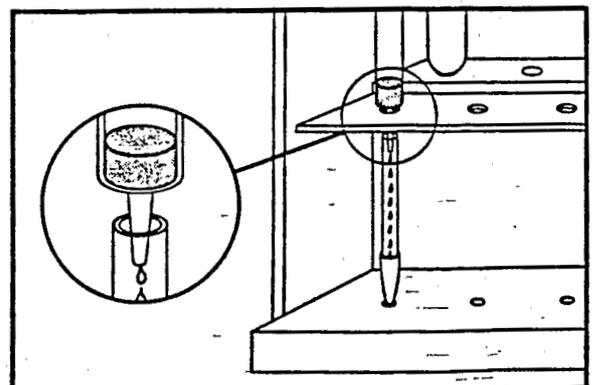
Par ponction du doigt (Fiche technique No 3) prélever du sang dans le tube Caraway jusqu'à la ligne rouge et vider le tube Caraway immédiatement sur la colonne en laissant le filtre du haut s'imbiber de sang jusqu'à ce que la colonne cesse de couler.



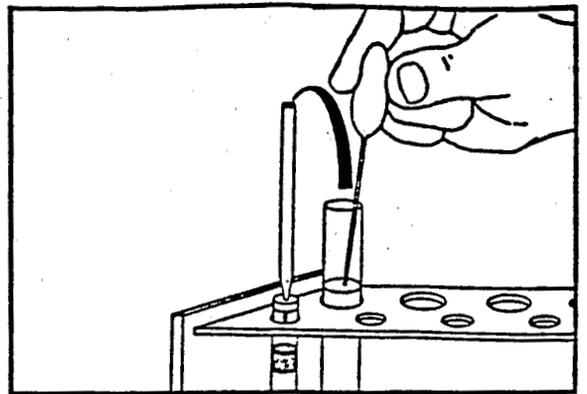
Ajouter quelques gouttes de tampon avec la pipette, et placer immédiatement le réservoir sur la colonne et le remplir de tampon (PBSG).



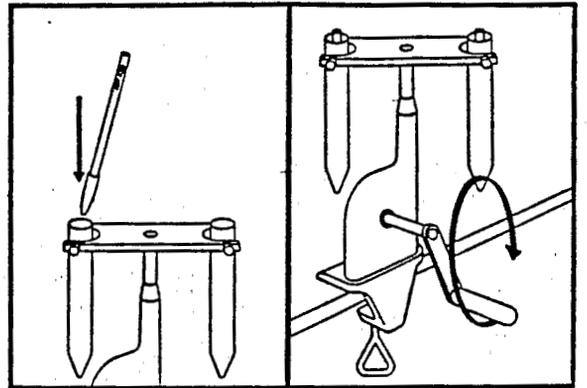
La colonne commencera à s'écouler goutte à goutte. Laisser passer 6 à 7 gouttes et placer le tube collecteur sous la colonne en veillant à ne pas former une poche d'air. Pour cela seul l'embout de la colonne pénètre dans le tube. (La position de la colonne est réglable. Ceci permet à l'éluat ne pas s'écouler en dehors du tube à centrifugation collecteur.



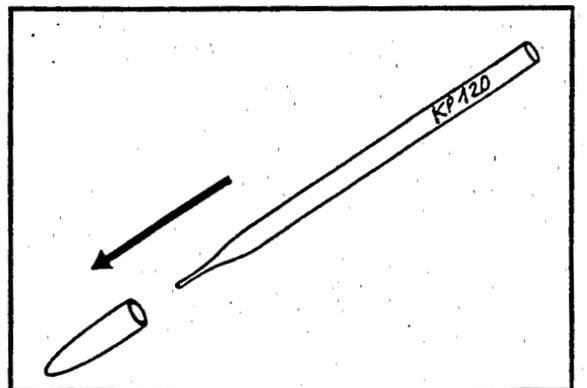
Refaire le plein du réservoir avec du tampon (PBSG) et laisser la colonne s'écouler lentement d'elle-même.



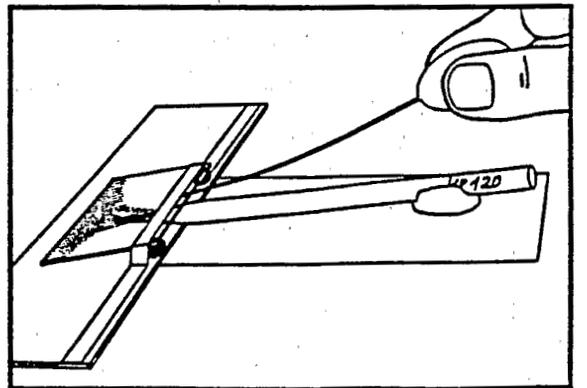
Lorsqu'il est plein, prendre le tube à centrifuger et le placer dans un tube support du rotor articulé de la centrifugeuse à main. Equilibrer la centrifugeuse en plaçant un poids équivalent sur le côté opposé. Centrifuger pendant 5 minutes. La vitesse approximative d'une centrifugeuse à main est de 1500 à 1800 RPM.



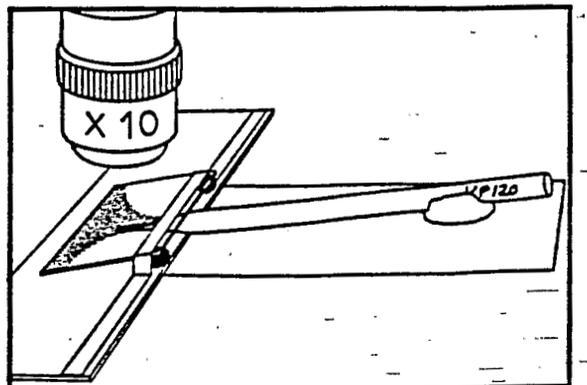
Retirer le tube collecteur de la centrifugeuse et ôter la protection en plastique.



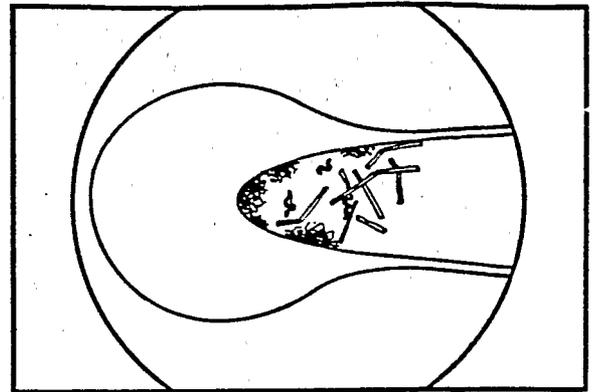
Introduire l'extrémité du tube à centrifuger dans une chambre de lecture et ajouter de l'eau entre la lame et la lamelle.



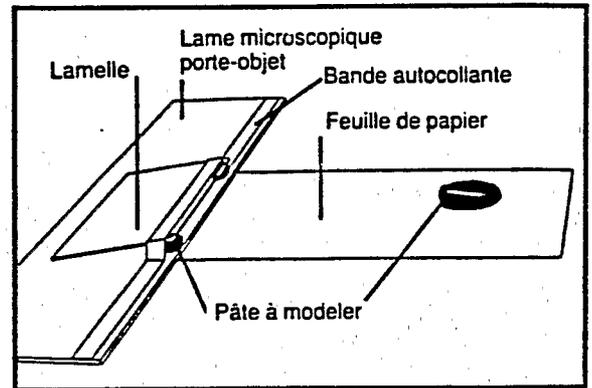
Examiner la pointe du tube à centrifuger m-AECT au microscope en utilisant l'objectif 10 x.



On reconnaît aisément les trypanosomes qui apparaîtront comme de petits organismes se tortillant à l'extrémité même du tube. Il peut arriver que des particules de cellulose traversent le filtre inférieur de la colonne et compliquent quelque peu l'examen. Dans ce cas, faire subir une rotation au tube et examiner à nouveau.



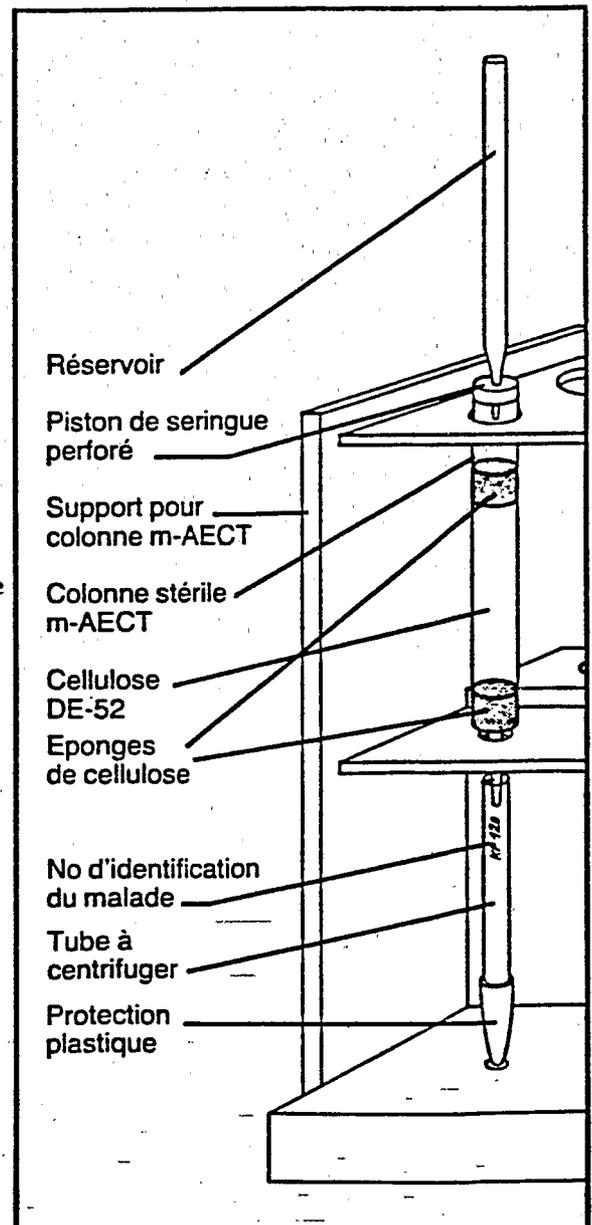
Voici une chambre de lecture.



Voici un diagramme schématique de la colonne et de ses accessoires montrant les différents éléments.

Attention

- NE PAS OUBLIER D'IDENTIFIER le tube collecteur par une étiquette ou avec un feutre indélébile.
- NE PAS OUBLIER D'EQUILIBRER la centrifugeuse lorsqu'un nombre impair de tubes est à centrifuger.
- NE PAS OUBLIER DE JETER le matériel contaminé dans une solution désinfectante après l'épreuve.



Examen du sang à l'état frais.

LA TRIPLE CENTRIFUGATION :

matériel =

- 3 tubes à fond conique dont 1 marqué à 10 ml.
- 1 centrifugeuse
- aiguilles à ponction veineuse
- pipettes Pasteur
- lames et lamelles.

méthode =

dans le tube n° 1 préparer 1 ml de citrate de sodium à 5 % prélever 9 ml de sang veineux directement dans le tube n° 1.

Bien agiter pour mélanger. Placer dans la centrifugeuse 3 minutes à 1000 t/mn.

Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur tout le surnageant au dessus des globules rouges : plasma et globules blancs. Rejeter ce surnageant dans le tube n° 2 qui sera centrifugé 10 minutes à 1500 t/mn.

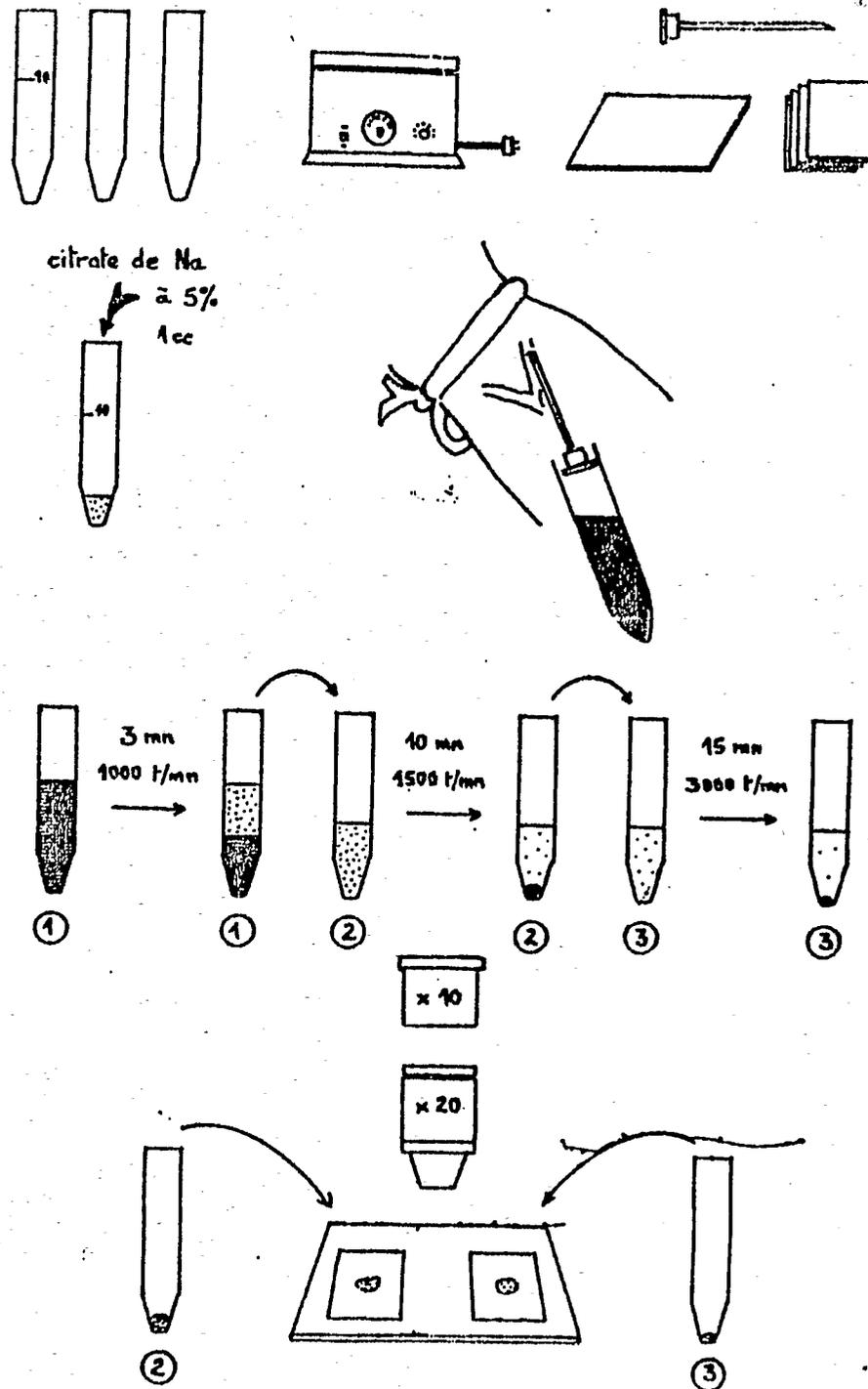
Prélever le surnageant du tube 2 et le placer dans le tube n° 3. Conserver le culot du n° 2. Placer le tube n° 3 dans la centrifugeuse 15 minutes à 3000 t/mn.

Placer le culot des tubes 2 et 3 sur une lame et examiner entre lame et lamelle.

Résultat :

Les éventuels trypanosomes seront détectés par leurs mouvements caractéristiques, dans le culot n° 3 parfois dans le culot n° 2.

L'examen sera fait avec un objectif x 20, oculaire x 10.



Examen du sang à l'état frais.

LA CENTRIFUGATION EN TUBES CAPILLAIRES.

Le matériel =

Centrifugeuse à hémocrite; tubes à hémocrite héparinés; pâte à sceller; alcool, coton, lancettes.

Le prélèvement =

Nettoyer à l'alcool la pulpe du doigt; laisser sécher. Piquer vivement à l'aide de la lancette. Faire venir le sang en pressant sur le doigt. Recueillir le sang dans le tube où il monte par capillarité. Laisser 1/2 cm vide. Fermer en prélevant de la plasticine directement avec le tube; attention: tenir le tube près de l'extrémité à sceller, sinon risque de bris et d'innoculation accidentelle!

La centrifugation :

Déposer le tube dans un compartiment de la centrifugeuse. Attention: l'extrémité scellée doit toujours être dirigée vers l'extrémité!

Fermer l'appareil et mettre en route la centrifugation: 3 minutes à 12 000 t/mn.

L'examen :

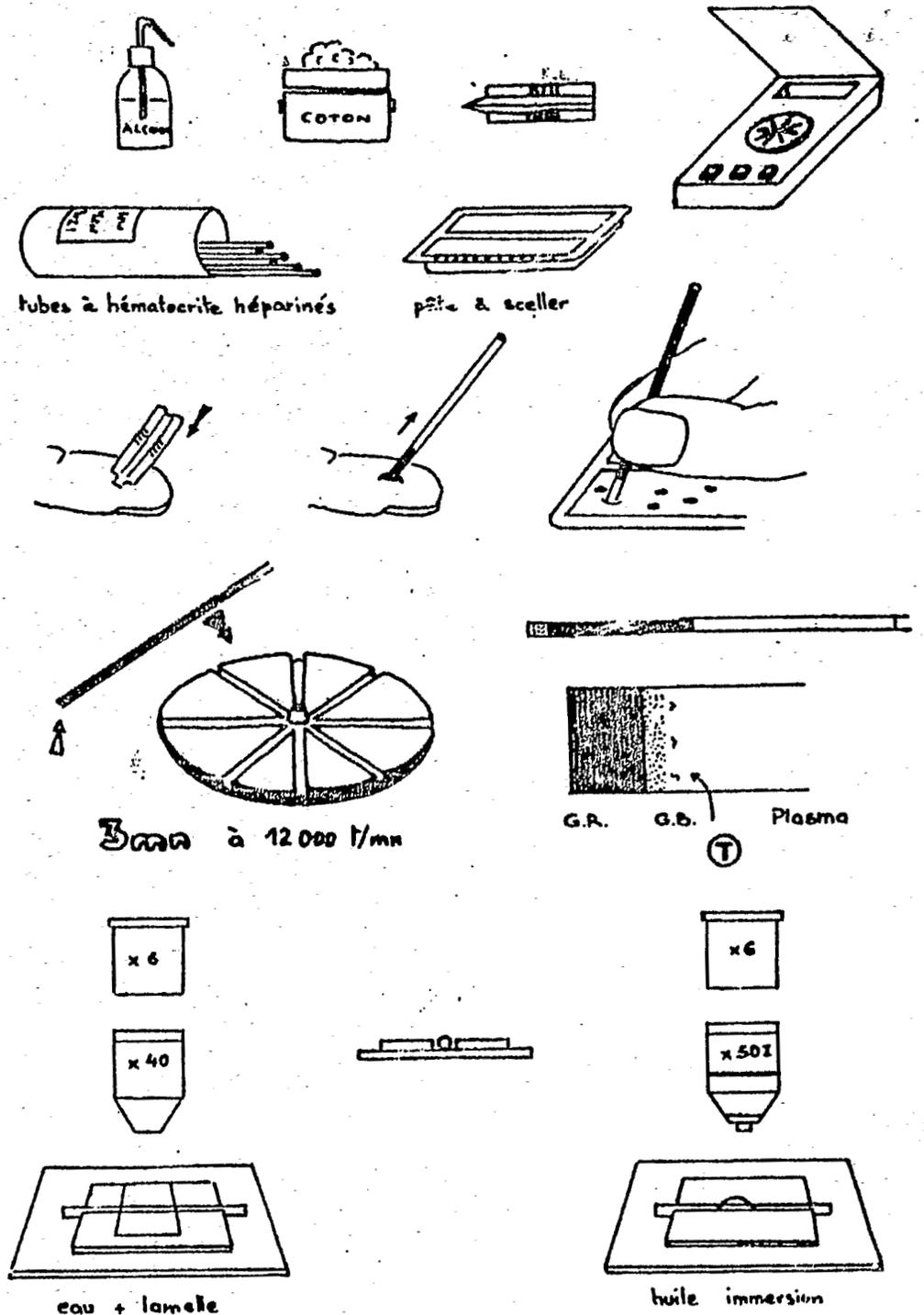
Le tube centrifugé est placé sur une lame porte-objet munie d'une gouttière; celle-ci est réalisée en collant deux morceaux de lame, laissant entre elles l'espace nécessaire pour insérer le tube capillaire.

L'observation se fait :

- soit avec un objectif 40 normal; on pose une lamelle sur le tube et l'on introduit de l'eau entre tube et lamelle.

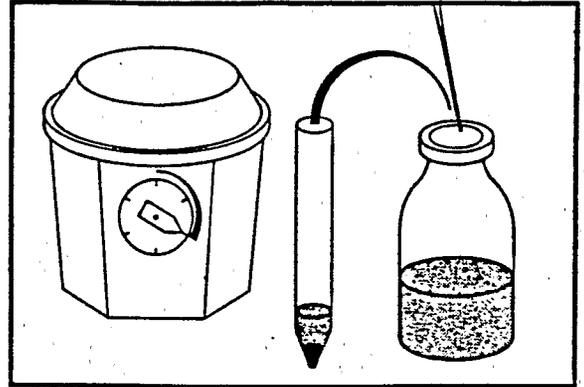
- soit avec un objectif 50 à immersion en interposant une goutte d'huile.

On observe l'interface éléments figurés-plasma: les trypanosomes migrent dans cette zone; on fait tourner le tube de façon à examiner l'ensemble de l'interface.

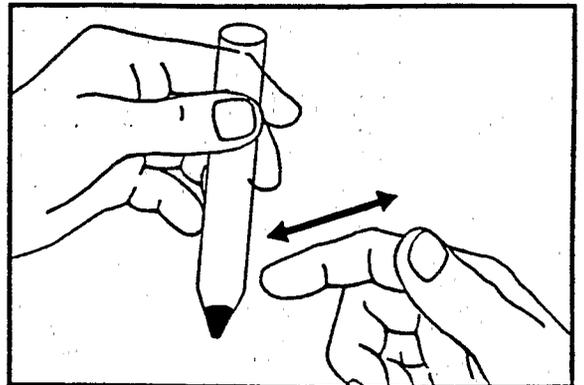


Le LCR: la simple centrifugation

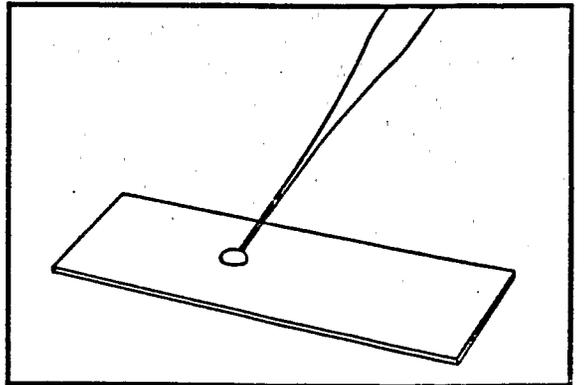
A la suite de la ponction lombaire (Fiche technique No 10,) le deuxième tube de LCR est centrifugé à 2000 RPM pendant 10 minutes. Le tube est décanté et le surnageant conservé pour d'autres analyses.



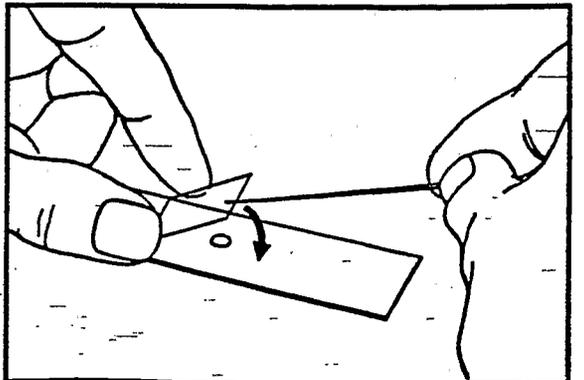
Le sédiment est suspendu à nouveau dans les quelques gouttes de LCR laissées au fond du tube en tapotant le tube avec le doigt.



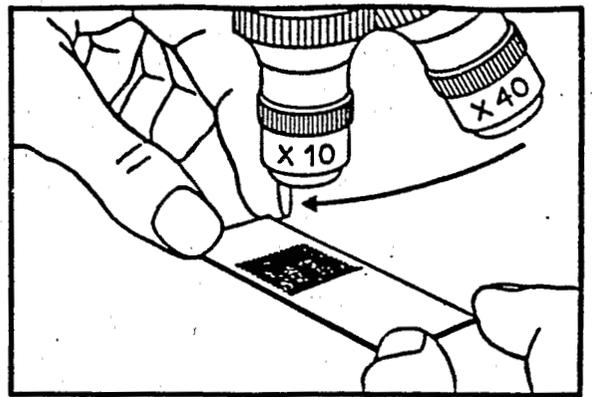
Placez une goutte de ce LCR resuspendu sur une lame de microscope propre et sèche.



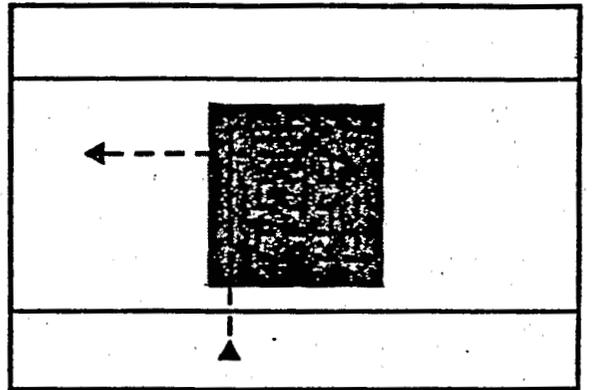
Couvrir immédiatement la goutte d'une lamelle. Attendre quelques minutes pour qu'il n'y ait plus de courants convectifs.



Placer la préparation sur la platine du microscope et examinez d'abord à l'objectif 10 x, si nécessaire passer à l'objectif 40 x pour confirmer la présence des trypanosomes.

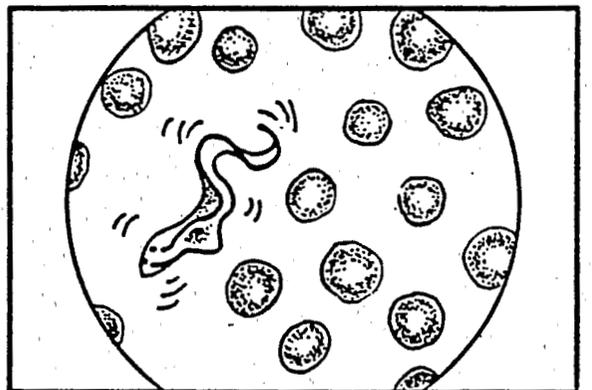


Parcourir toute la préparation en commençant par les bords car les trypanosomes se retrouvent souvent à la périphérie de la préparation.



Résultats

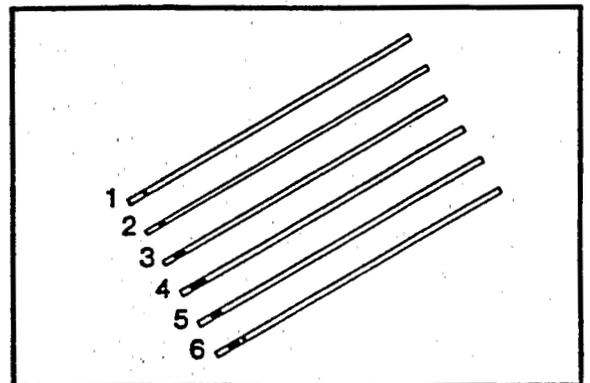
La découverte de trypanosomes se déplaçant dans le LCR signifie que le système nerveux central est atteint et que le malade est en deuxième période.



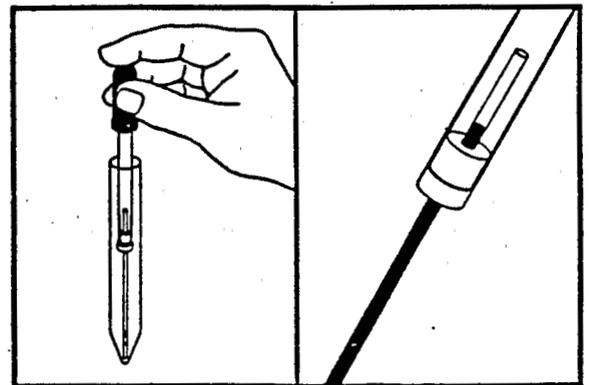
Le LCR: la double centrifugation

Comme pour la centrifugation simple centrifuger et décanter le tube No 2.
(Fiche technique No 14a)

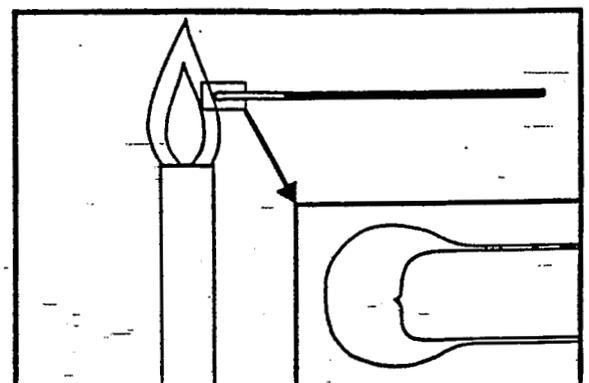
Si plusieurs tests sont effectués, marquer les tubes pour microhématocrite non héparinés de petits traits. Ceux-ci peuvent être tracés sur les microhématocrites avec un feutre indélébile.



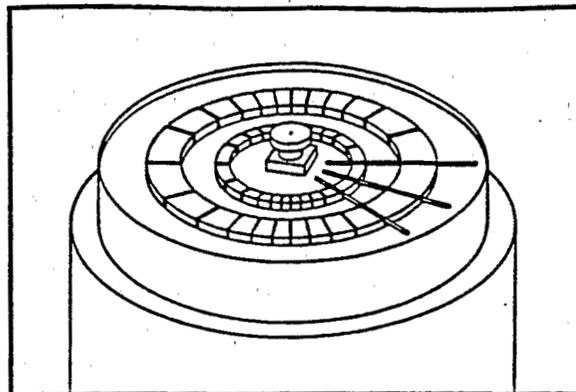
Aspirer le sédiment de chaque LCR dans un microhématocrite en veillant à ne pas le remplir complètement. Effectuer cette opération à l'aide d'une poire en caoutchouc prolongée. Ne pas remplir le microhématocrite totalement. Laisser environ 1 cm sans LCR.



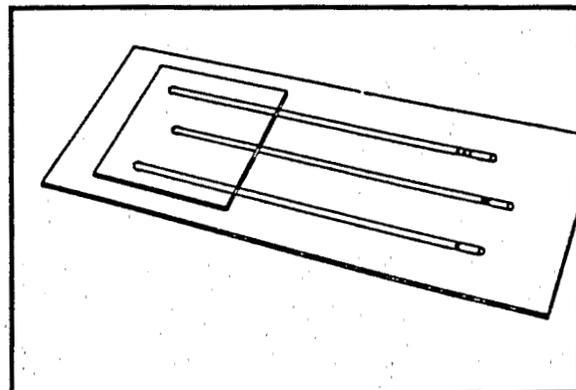
Sceller l'extrémité qui n'a pas été en contact avec le LCR à la flamme d'un bec Bunsen.



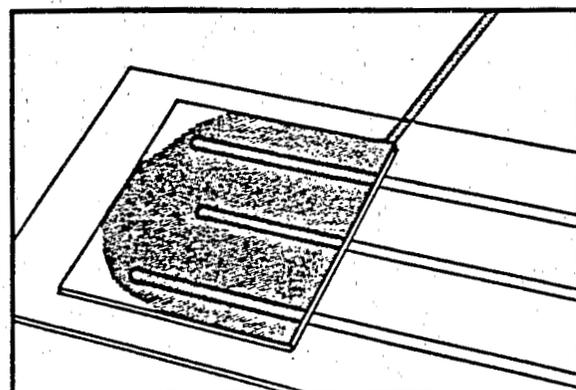
Centrifuger les microhématocrites dans une centrifugeuse spéciale pendant une ou deux minutes.



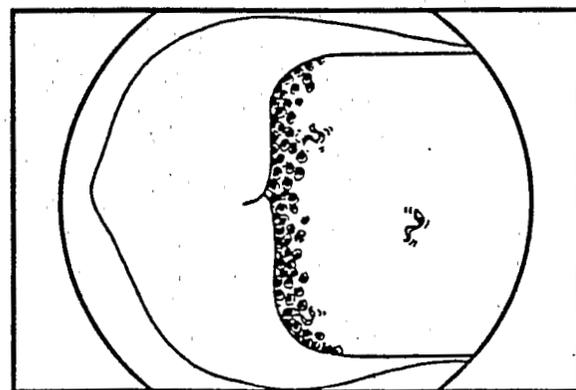
Puis, les placer sur une lame de microscope avec une lamelle sur l'extrémité scellée.



Mettre un peu d'eau propre entre la lame et la lamelle en évitant la formation de bulles d'air. L'eau sera retenue par capillarité. Ceci permet d'éviter la distorsion de l'image au microscope.



Observez les bouts scellés de chaque microhématocrite à l'objectif 10x. Il faudra pour cela disposer d'un microscope de bonne qualité doté d'un oculaire 10 x et d'un multiplicateur de 1,5 x pour obtenir un grossissement total de 150 x. On observera les trypanosomes en mouvement près des leucocytes sédimentés. On notera qu'ils s'en éloigneront petit à petit.



- Anonyme, 1983. - Manuel pour la lutte contre la trypanosomiase.
OMS - Genève, Edition expérimentale.

La ponction ganglionnaire

Matériel

Aiguille (pour injection sous-cutanée)
25G (0,5mm x 16mm)

Seringue de 5 ou 10 ml (seringue et
aiguille doivent être parfaitement
sèches)

Lames

Lamelles

Teinture d'iode

Préparer la seringue et tirer le piston
à fond.

Se laver les mains à l'eau et au savon.

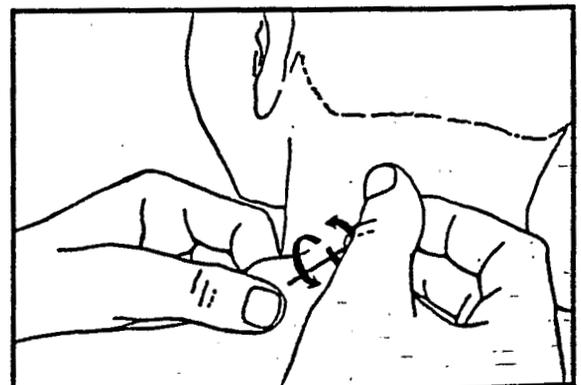
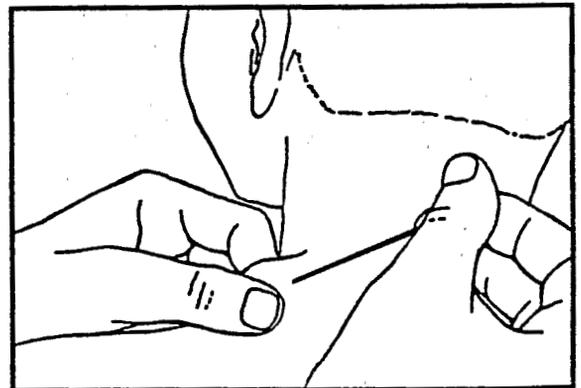
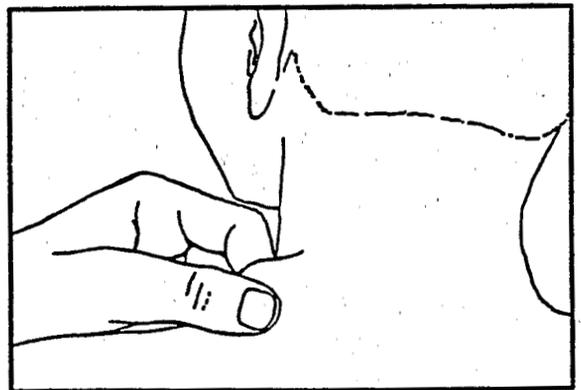
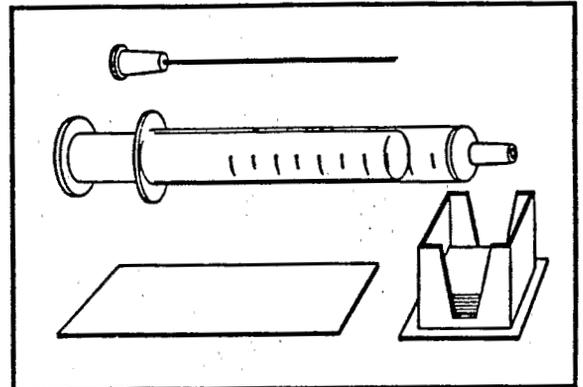
Faire asseoir le malade et désinfecter
l'endroit choisi, du cou avec du
thiomersal ou de l'alcool à 70 %.

Avec la main gauche, saisir le ganglion
entre le pouce et l'index en le faisant
bien ressortir. Garder la main immobile.
Avec l'autre main, tenir l'aiguille
entre le pouce et l'annulaire et
l'introduire perpendiculairement au
centre du ganglion, en 2 temps: pénétrer
d'abord sous la peau, puis, pénétrer
dans le ganglion.

Veiller à ne pas atteindre les
jugulaires ou les carotides.

De la main gauche, malaxer doucement le
ganglion. De la main droite, faire
pivoter l'aiguille sur elle-même.

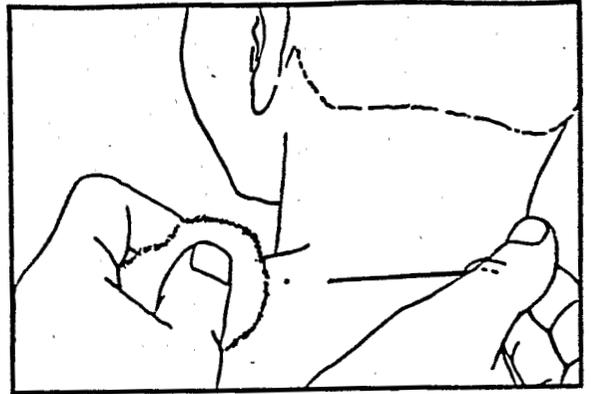
Le suc ganglionnaire monte dans
l'aiguille. L'opération doit durer
environ une minute.



Retirer l'aiguille d'un mouvement rapide, en bouchant avec l'index la base de l'aiguille.

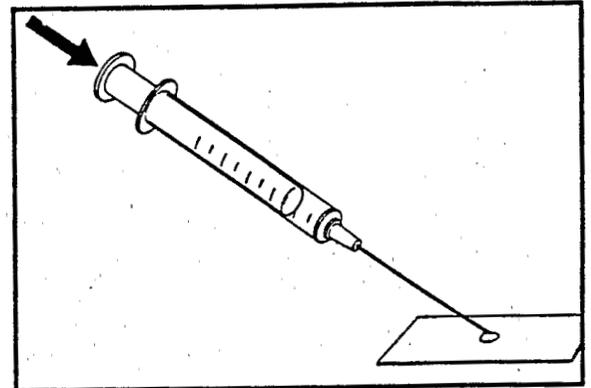
Ensuite, poser un tampon de désinfectant sur le point de ponction.

(Ne jamais mettre le tampon désinfectant avant de retirer l'aiguille, car un peu de désinfectant pourrait mouiller la pointe de l'aiguille, pénétrer dans le suc prélevé et immobiliser les trypanosomes)



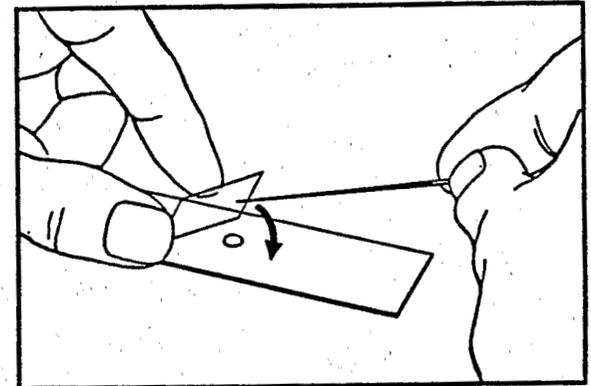
Fixer l'aiguille à la seringue (piston tiré à fond).

Pousser doucement le piston à mi-course, pour déposer sur la lame le suc ganglionnaire contenu dans l'aiguille.

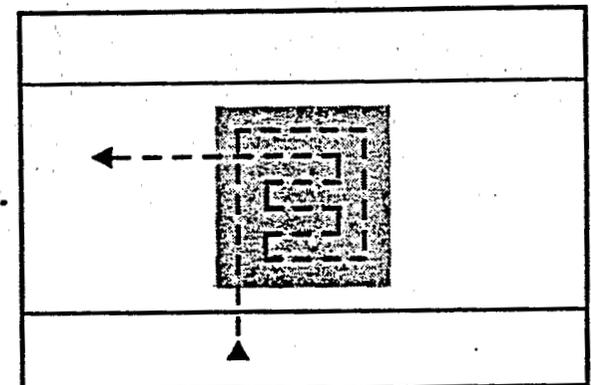


Couvrir les préparations d'une lamelle. Les examiner aussitôt au microscope avec un agrandissement 400 x, en utilisant l'objectif 40 x.

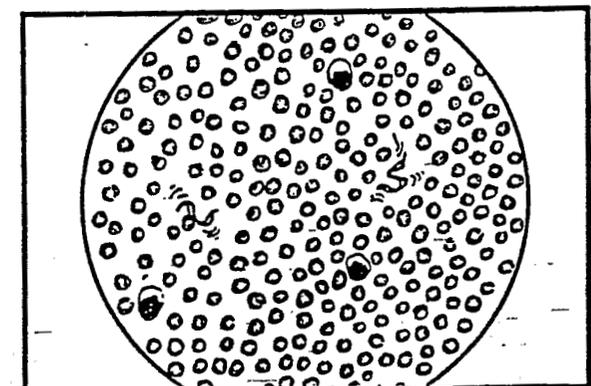
Attendre que les courants de liquide cessent dans la préparation. Il est impossible de distinguer le mouvement des trypanosomes entre des cellules qui ne sont pas immobiles.



Commencer par examiner les pourtours, près des bords de la lamelle, vers lesquels les trypanosomes ont tendance à se diriger. Puis examiner le reste de la préparation.



La préparation contient des hématies, des leucocytes et des lymphocytes. Le trypanosome mesure environ 20 μm de long et est souvent caché par les globules, entre lesquels il se déplace en les secouant de son flagelle. Tout mouvement est suspect. Il arrive que les trypanosomes disparaissent en se cachant sous les globules. Examiner la préparation avec la plus grande attention.



EXAMEN DU L.C.R.

DECOMPTE DES CELLULES

Prélever dans un tube à essai 1ml de L.C.R., de préférence les dernières gouttes prélevées.

Agiter le tube pour remettre les cellules en suspension.

A l'aide d'une pipette Pasteur introduire le L.C.R. entre la lame et la lamelle isoplane d'une cellule de Nageotte.

Examiner au grossissement x20

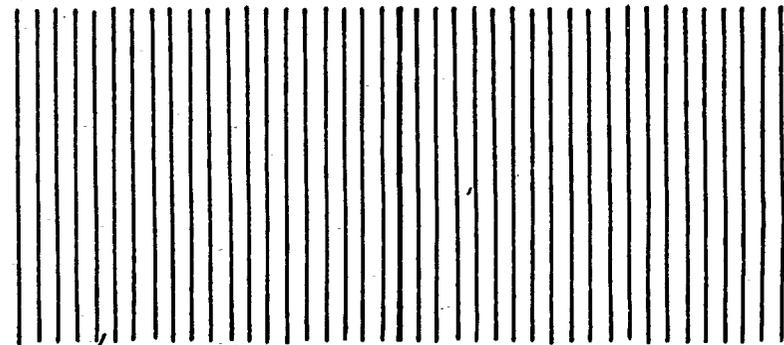
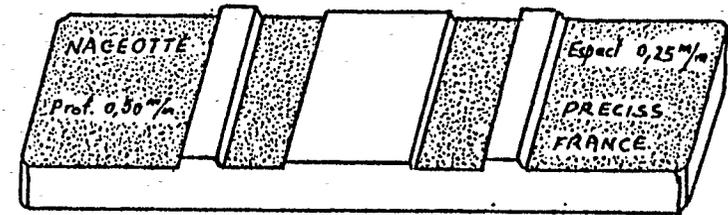
La cellule est divisée en 40 bandes

1 bande = 1,25 mm³

cellule entière = 1,25 x 40 = 50 mm³

Pratiquer la numération sur 4 bandes et diviser par 5.

Ce décompte n'a aucune valeur si la ponction a été traumatique. On compte alors les cellules du sang et non celles du L.C.R.



1 Bande = 1,25 mm³

Compter sur 4 bandes et diviser par 5

EXAMEN DU L.C.R.

DOSAGE DES PROTEINES

MATERIEL :

Tube de Sicard et Cantaloube
Acide trichloracétique à 30%
Bec Bunsen ou lampe à alcool
Pince en bois, portoir

METHODE :

Verser dans le tube de Sicard le LCR à étudier jusqu'à la graduation marquée 4. Chauffer légèrement sur la flamme en agitant le tube jusqu'à l'obtention de vapeur ; ne pas faire bouillir. Verser 12 gouttes d'acide trichloracétique ; boucher le tube et l'agiter quelques secondes. Déposer sur un portoir parfaitement vertical. Faire la lecture après 5 heures.

LECTURE :

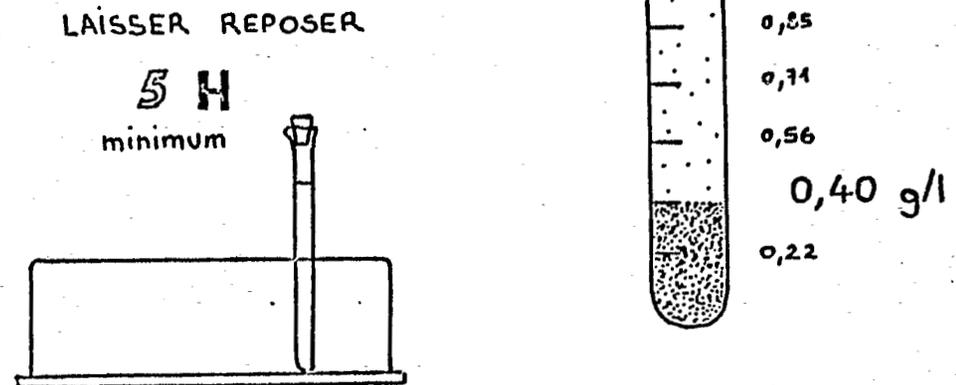
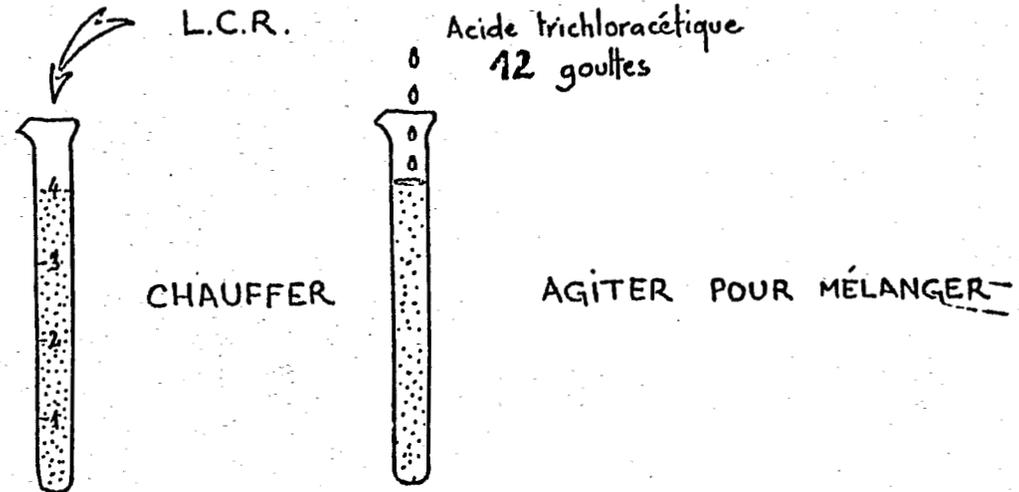
Il faut mesurer la hauteur du précipité obtenu. La première graduation en bas du tube correspond à 0,22 g/l.

1 ^o graduation	: 0,22 g/l
2 ^o „	: 0,40 g/l
3 ^o „	: 0,56 g/l
4 ^o „	: 0,71 g/l
5 ^o „	: 0,85 g/l

Le taux de protéines est normal lorsqu'il est inférieur ou égal à 0,30 g/l.

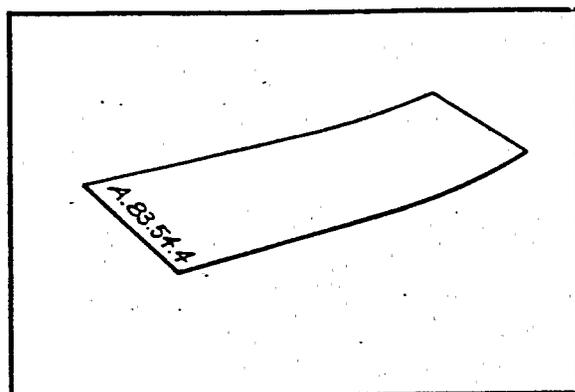
Si le précipité est entre deux graduations, calculer la moyenne.

Si le précipité est supérieur à 0,85 g/l, refaire le dosage en diluant le LCR à moitié dans un sérum salé isotonique.

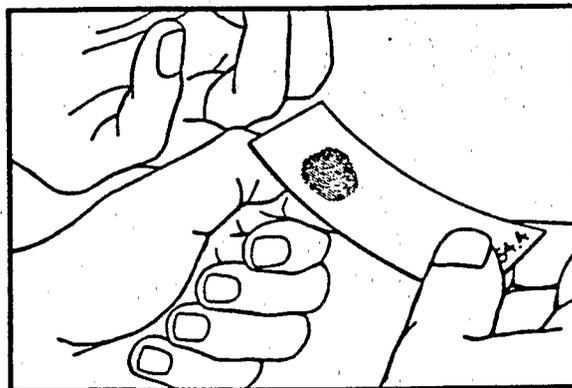


Le prélèvement de sang sec

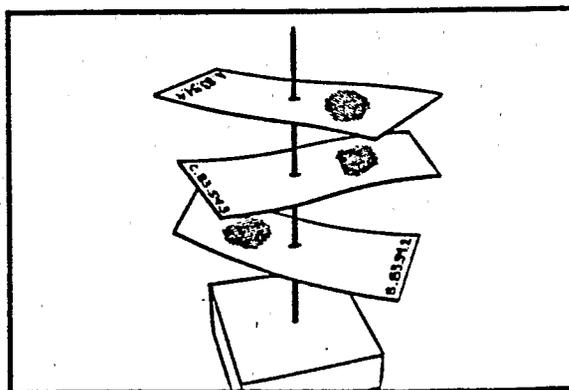
Noter le numéro d'identification du sujet d'un côté d'un morceau de papier-filtre d'environ 3 x 7 cm. Le papier-filtre Whatmann no 4 est celui qui convient le mieux.



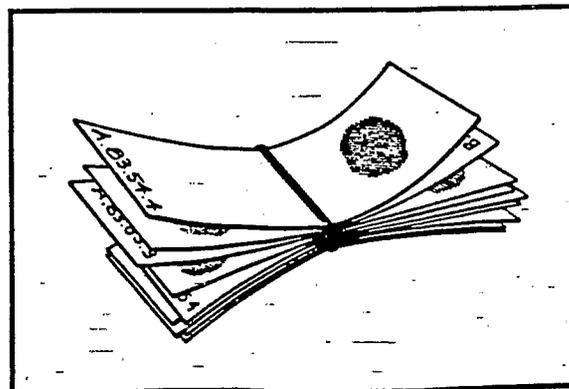
En suivant la méthode de la piqûre du doigt (Fiche technique no 3) absorber une goutte de sang du côté opposé pour obtenir une tache de 1 à 1,5 cm de diamètre.



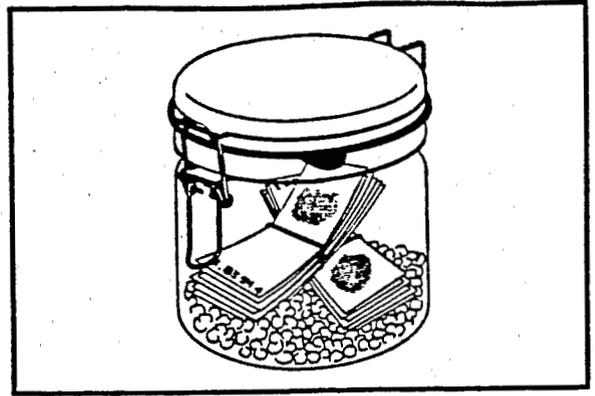
Placer le papier-filtre sur un râtelier: un morceau de bois avec un bout de fil de fer au milieu fera l'affaire. Laissez sécher complètement l'échantillon à l'ombre pendant 1 heure environ.



Grouper les échantillons séchés et les attacher avec un élastique. Alternier les papiers-filtres, comme le montre l'illustration, pour que les taches de sang de deux papiers-filtres successifs ne se touchent pas, ce qui permet d'éviter toute contamination.



Placer les paquets de papiers-filtres dans un bocal étanche rempli de gel de silice. Mettre le bocal dans un endroit frais et ombragé, au réfrigérateur ou dans un congélateur.



Envoyer les échantillons de sang séché le plus rapidement possible à un laboratoire de diagnostic central qui puisse procéder à l'épreuve par immunofluorescence indirecte ou à l'épreuve d'hémagglutination indirecte.

S'il n'y a qu'un ou deux échantillons, ceux-ci peuvent être placés dans un sac en plastique contenant du gel de silice et envoyés par la poste.

Les échantillons doivent être gardés autant que possible au sec et au frais. Correctement emballés, les échantillons peuvent être gardés un mois au réfrigérateur.

Le test d'agglutination sur carte pour la trypanosomiase

L'épreuve CATT (Card Agglutination Trypanosomiasis Test) est une trousse de diagnostic sérologique qui contient les éléments suivants :

Les réactifs

- 5 flacons d'antigène lyophilisé de 50 tests chacun
- 1 flacon de sérum de contrôle positif lyophilisé
- 1 flacon de sérum de contrôle négatif lyophilisé
- 1 flacon de tampon pour reconstituer les réactifs

Les accessoires

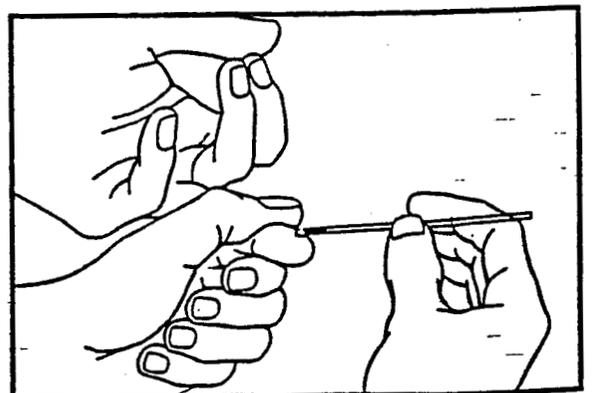
- | | |
|------------------|---|
| Réutilisables : | tiges d'agitation
compte-gouttes
mini-poire en caoutchouc pour micro-hématocrites
seringue de 2,5 ml avec aiguille |
| A usage unique : | tubes pour micro-hématocrite
cartes de réactions |

Matériel

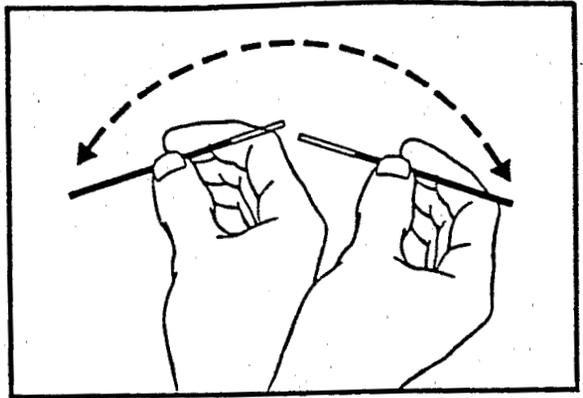
- portoirs à micro-hématocrites avec couvercles
- agitateur rotatif manuel ou électrique (12/220 v) avec couvercle

Avant l'épreuve préparer le matériel et les accessoires et reconstituer la quantité de réactif nécessaire pour une journée de travail. Lire et suivre attentivement les instructions contenues dans chaque trousse.

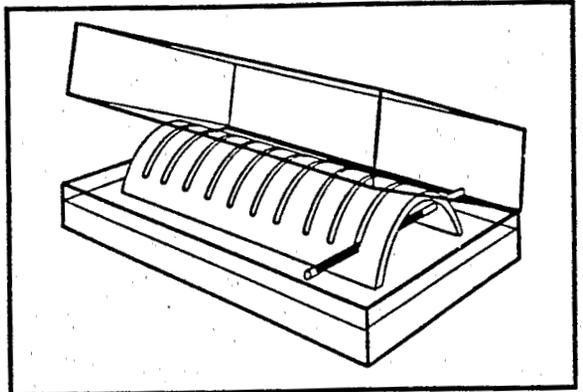
Pour l'assistant chargé des prélèvements: En suivant la méthode de la piqûre du doigt (Fiche technique No 3) remplir de sang par capillarité un tube pour micro-hématocrite.



Agiter immédiatement et légèrement le tube pour que le sang s'écoule deux ou trois fois d'un bout à l'autre du tube. Cette opération permet de bien mélanger le sang et l'héparine ce qui évite la coagulation dans le tube.

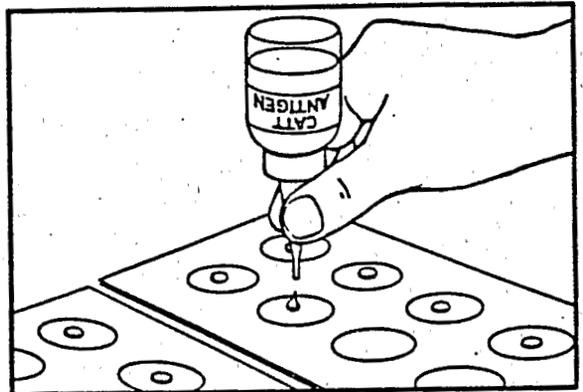


Placer le tube pour micro-hématocrite dans le portoir prévu à cet effet. Veiller à ce que le portoir reste couvert dans la mesure du possible pour éviter la poussière et pour que le sang ne sèche pas dans le tube. Le portoir contient 10 fentes numérotées. Vérifier que le premier tube est posé dans la première fente et ainsi de suite. Quand le portoir est rempli, le passer au technicien.



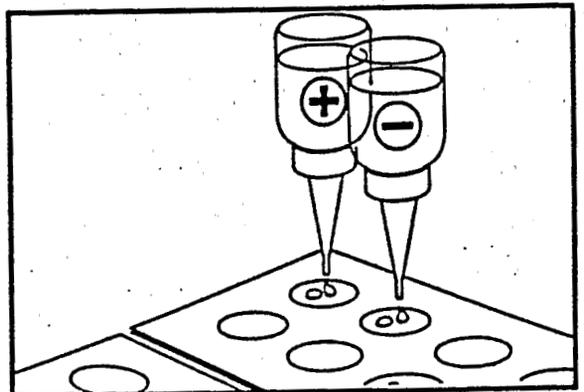
Pour le technicien-laborantin :

Préparer deux cartes. Déposer une goutte d'antigène reconstitué (Ag) sur deux cercles de réaction de la première carte et sur tous les cercles de la seconde carte. Le flacon doit être tenu verticalement pour obtenir des gouttes calibrées constantes.

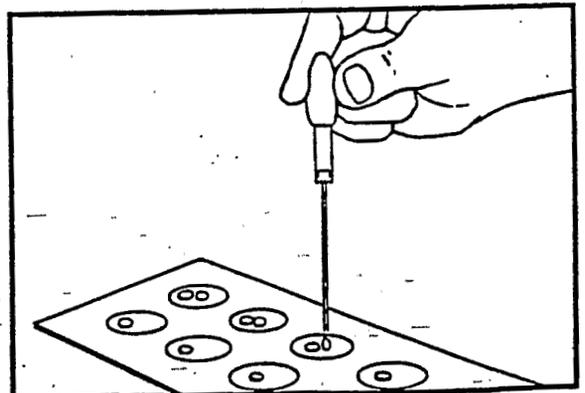


Sur la première carte, vérifier la qualité du réactif :

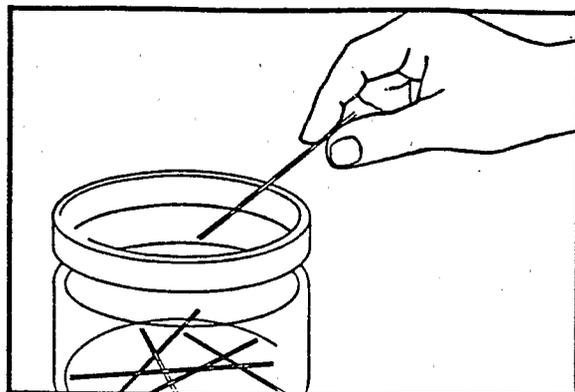
Sur le cercle no 1 placer une goutte de contrôle positif, sur le cercle no 2 une goutte de contrôle négatif. Contrôler le réactif une fois par jour.



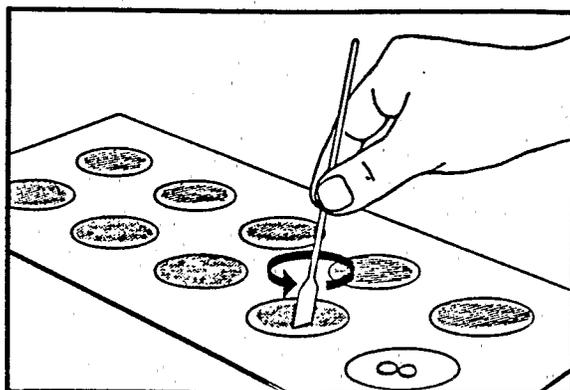
Déposer sur les cercles de réaction de la deuxième carte une goutte de sang de chaque micro-hématocrite en utilisant la mini-poire spéciale en caoutchouc. Le tube pour micro-hématocrite contient généralement plus d'une goutte, mais n'utiliser qu'une seule goutte pour l'épreuve.



Jeter le tube pour micro-hématocrite dans un bocal rempli d'eau légèrement savonneuse.

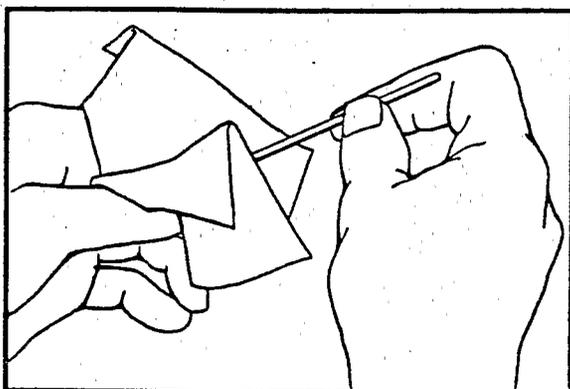


Mélanger le réactif et le sang dans chaque cercle avec une tige d'agitation et étendre le mélange pour qu'il recouvre toute la surface du cercle.



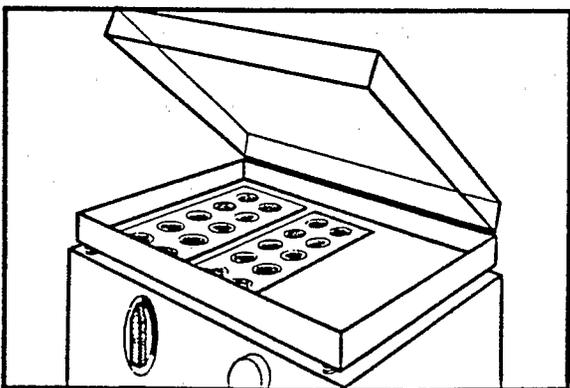
Essuyer et sécher ensuite la tige avec une feuille de papier hygiénique ou un chiffon propre entre chaque échantillon pour éviter qu'un échantillon n'en contamine un autre.

Attention : nettoyer la tige d'agitation chaque fois entre deux échantillons. Sinon les résultats risquent d'être faussés.



Placer les deux cartes sur l'agitateur rotatif, les couvrir et enclencher la minuterie pour 5 minutes. S'il s'agit d'un agitateur manuel vérifier la durée sur votre montre. La vitesse de rotation doit être d'environ 70 r.p.m.

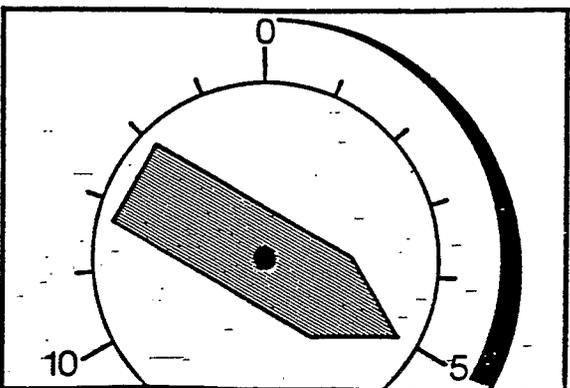
Si la vitesse est trop élevée, les agglutinats se formeront au bord de l'étalement. Si elle ne l'est pas assez, la réaction est faible.



Après 5 minutes lire la réaction immédiatement.

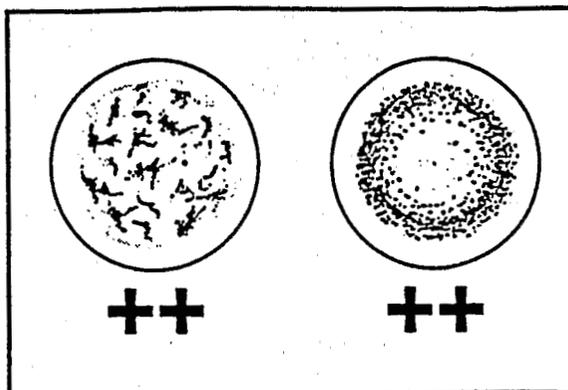
Veillez à ce que l'échantillon ne sèche pas.

Il ne faut pas lire des réactions qui ont séché.



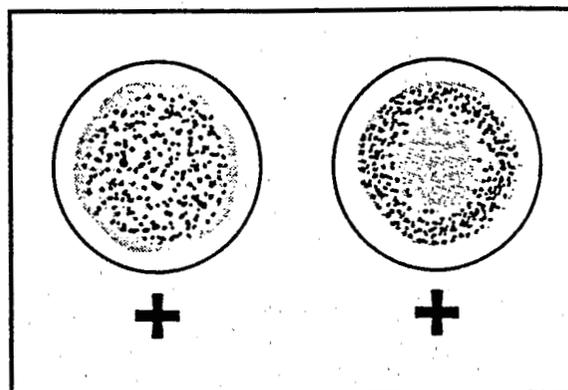
Réaction POSITIVE :

Lorsque les petites particules se regroupent elles forment des agglutinats visibles à l'oeil nu. Une réaction positive présentera des agglutinats plus ou moins grands sur toute la surface du cercle ou en anneau.



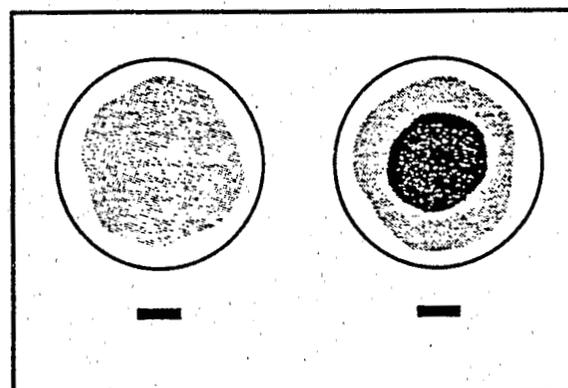
Réaction DOUTEUSE :

On observe une agglutination très légère sur l'ensemble du cercle de réaction ou en anneau. Confirmer ce type de réaction sur le sérum ou le plasma.



Réaction NEGATIVE :

Aucune agglutination n'est visible. La réaction reste uniforme, parfois légèrement plus dense au centre.

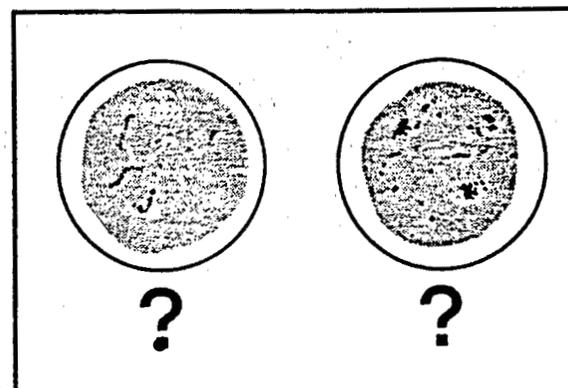


Réactions ASPECIFIQUES :

Anneau séché vers le bord du cercle ou petits points ou fils.

Il s'agit en général de réactions négatives; en cas de doute confirmer ce résultat en répétant l'épreuve sur le sérum ou le plasma.

A la fin de la journée de travail, s'il reste du réactif CATT reconstitué, jeter le réactif reconstitué. Ne jamais essayer de l'utiliser le lendemain, car les résultats pourraient être faussés entraînant ainsi une perte de temps pour tout le monde.



IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE.

GENERALITES

La réaction d'immunofluorescence indirecte, pour la THA, permet de détecter, dans un prélèvement, des anticorps anti-trypanosomes.

Pour cela, il faut disposer, au laboratoire, d'un antigène: une souche de trypanosomes entretenue sur souris blanches.

Les lames d'antigène sont des frottis de sang de souris hyperparasité.

La réaction consiste à mettre en contact le prélèvement avec l'antigène.

Si le prélèvement contient des anticorps, ceux-ci se fixent sur l'antigène.

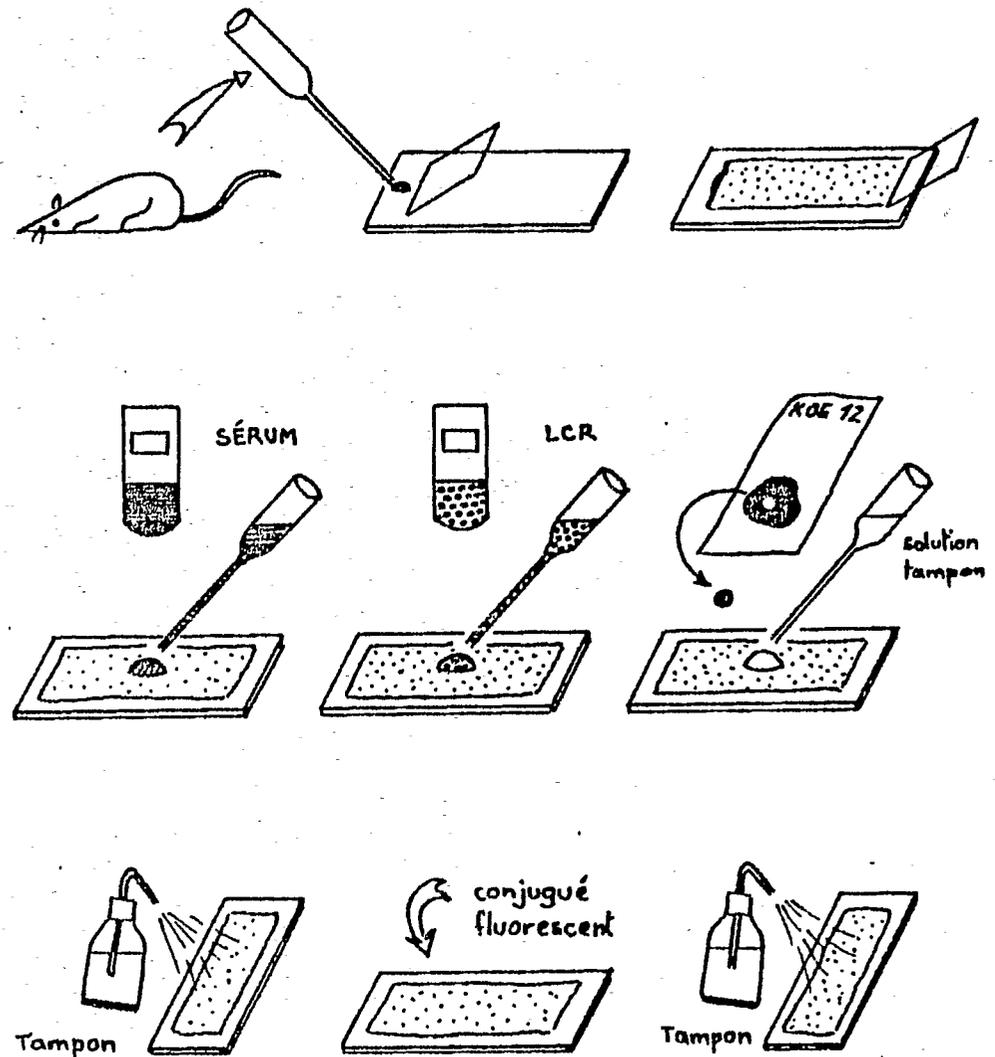
Après lavage, nous plaçons sur la lame un conjugué fluorescent qui se fixe spécifiquement sur les anticorps en les rendant fluorescents.

Après un second lavage, nous pouvons faire la lecture au microscope à fluorescence.

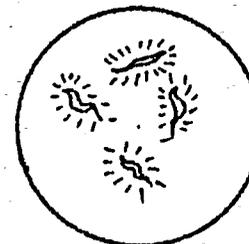
Si les trypanosomes apparaissent fluorescents (très brillants), le prélèvement contenait des anticorps et provenait donc d'un individu suspect de THA. La réaction est positive.

Dans le cas contraire, les trypanosomes restent ternes. La réaction est négative.

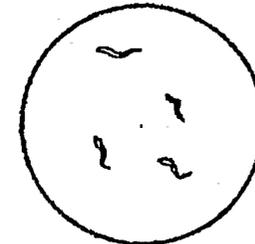
LA REACTION D'IFI SE PRATIQUE AVEC DU SERUM, DU LCR OU DU SANG SEC SUR PAPIER (méthode des confetti).



MICROSCOPE A FLUORESCENCE



positif



négatif

57

Immunofluorescence indirecte .

PRELEVEMENTS

SANG SEC SUR PAPIER .

MATERIEL : Coton, lancettes stériles, alcool 90°, bandelettes de papier de 7 cm X 3 cm (papier Whatman n° 1 pour chromatographie), bocal avec bandelettes vierges, bocal vide pour prélèvements, pics de séchage et plateaux.

Les 2 bocaux doivent contenir un deshydratant : du silicagel bleu. Lorsque le silicagel devient rose, le régénérer en le passant au four. Il est actif lorsqu'il est bleu foncé.

Prélèvement :

- retirer une bandelette du bocal, porter au crayon ou au stylo à bille (jamais à l'encre) le n° d'identification de l'individu à prélever.

PORTER UNE GRANDE ATTENTION A L'IDENTIFICATION.

- nettoyer l'extrémité d'un doigt avec un tampon imbibé d'alcool à 90°.

- piquer franchement la pulpe du doigt avec une lancette ou un vaccino-style.

- essuyer la première goutte avec un tampon de coton sec.

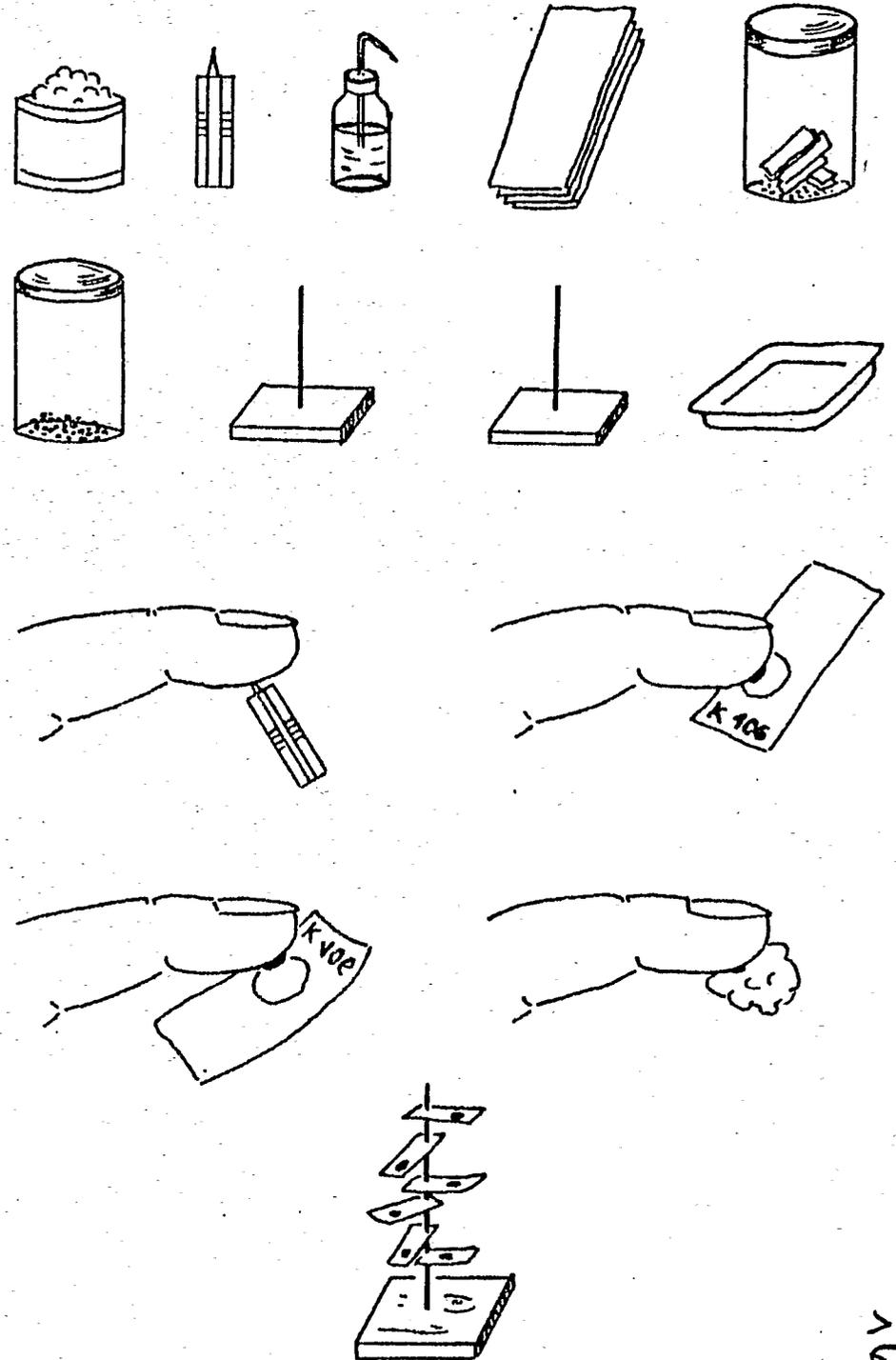
- presser alors fermement le doigt en récupérant les gouttes de sang au même point de la bandelette. Imbibé les deux faces de la bandelette. Réaliser une tache de sang de 2 cm de diamètre.

- placer un tampon d'alcool au point de piqûre sur le doigt.

Séchage :

- piquer la bandelette sur un pic de séchage.

- laisser sécher à l'abri des mouches et de l'humidité.



- après 30 mn à 1 h de séchage, placer la bandelette dans le bocal vide.

- à la fin de la séance de prélèvements, remplacer le silicagel hydraté rose par du silicagel bleu foncé.

Conservation :

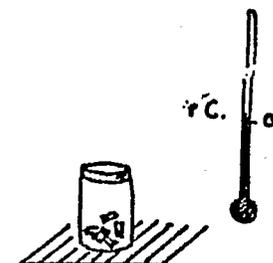
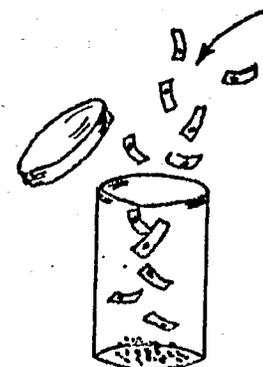
- placer dès que possible le bocal contenant les prélèvements au réfrigérateur.

- pour une plus longue conservation, placer le au congélateur.

NE JAMAIS OUVRIR UN BOCAL QUE L'ON VIENT DE SORTIR DU REFRIGERATEUR OU DU CONGELATEUR. ATTENDRE QU'IL N'Y AIT PLUS DE CONDENSATION SUR LES PAROIS.

Expédition :

- expédier les prélèvements le plus rapidement possible vers le laboratoire destinataire.



HEMAGGLUTINATION INDIRECTE

Principe

La réaction d'hémagglutination indirecte (HAI) est obtenue en plaçant le sérum du patient au contact d'une suspension d'érythrocytes stabilisés, sensibilisés avec un antigène Trypanosoma gambiense soluble.

Dans le cas de réaction positive, vous observez une agglutination nette des érythrocytes.

Réalisable sur le terrain - Résultat rapide (2 h).

Réalisation

Test réalisable avec le kit "Cellognost ^(R) Trypanosomiasis" de l'Institut Behring.

Ce kit comprend tous les réactifs nécessaires à la réaction et une notice explicative à suivre attentivement.

DOSAGE DES IMMUNOGLOBULINES .

DOSAGE DES IgM .

Depuis longtemps a été observée une augmentation remarquable des immunoglobulines de la classe IgM dans le sérum et le liquide céphalo-rachidien des trypanosomés.

Des méthodes simples d'évaluation du taux des IgM ont été mises au point et utilisées sur le terrain pour un diagnostic rapide. Ces méthodes ont été remplacées, depuis, par des techniques immunologiques plus spécifiques comme l'IFI.

Nous pensons, cependant, que le dosage des IgM sériques présente encore, à l'heure actuelle, un grand intérêt pour la confirmation d'une suspicion immunologique.

D'autre part une concentration en IgM supérieure à 10 % des protéines totales dans le LCR est pratiquement pathognomonique de la trypanosomiase.

Le dosage des IgM est réalisé sur plaque par la méthode d'immunodiffusion radiale.

La plaque d'immunodiffusion, commercialisée prête à l'emploi, est recouverte d'une couche de gélose contenant un sérum anti-IgM humaines.

Les sérums à étudier et les sérums standards sont déposés dans des puits creusés dans la gélose.

Une diffusion s'effectue dans la gélose et un cercle de précipité se forme. Le diamètre de ce cercle est proportionnel à la quantité d'IgM contenue dans le sérum.

Suivre attentivement les notices d'utilisation des plaques.

SUSPECT IMMUNOLOGIQUE

(IFI)

Examens Parasitologiques

si positifs

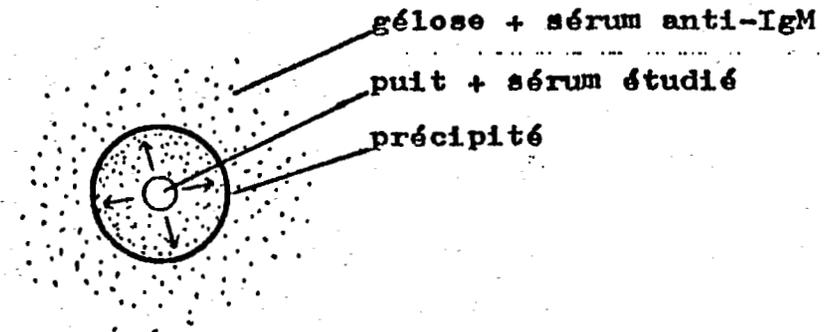
si négatifs

mise en traitement

dosage des IgM

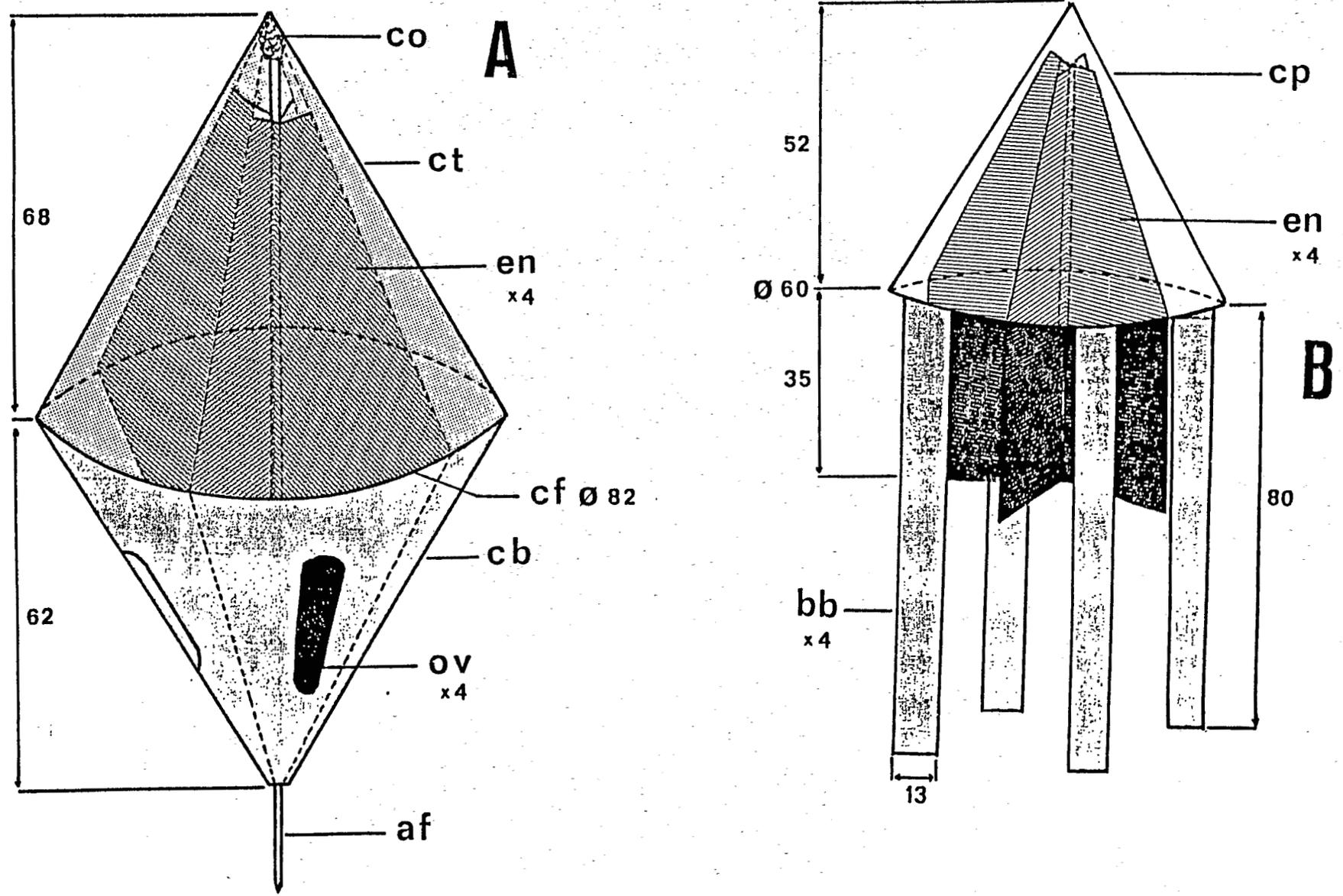
si { IFI positive
et
IgM sérique > 4x normal

mise en traitement



Immunodiffusion radiale

FIG. 20. Pièges à glossines utilisés lors des campagnes de lutte contre la maladie du sommeil (les cotes sont exprimées en centimètres) : A = piège biconique (Challier et Laveissière, 1973); B = piège monoconique (Lancien, 1981); C = piège pyramidal (Gouteux et Lancien, 1987); D = piège "Vavoua" (Laveissière et al., 1987); af = axe en fer; ba = baguette plastique (piège C) ou en bois (piège D); cb = boule de coton; cp = cône en PVC transparent; ct = cône supérieur en tulle moustiquaire; eb = écran bleu électrique; eb/n = écran bleu/noir (coton/polyester bleu et voile polyamide noir); en = écran noir; ou = ourlet de 3 cm; ov = ouverture; pt = pyramide en tulle moustiquaire; sc = système de capture (bouteille ou sac plastique); sf = système de fixation (suspension).



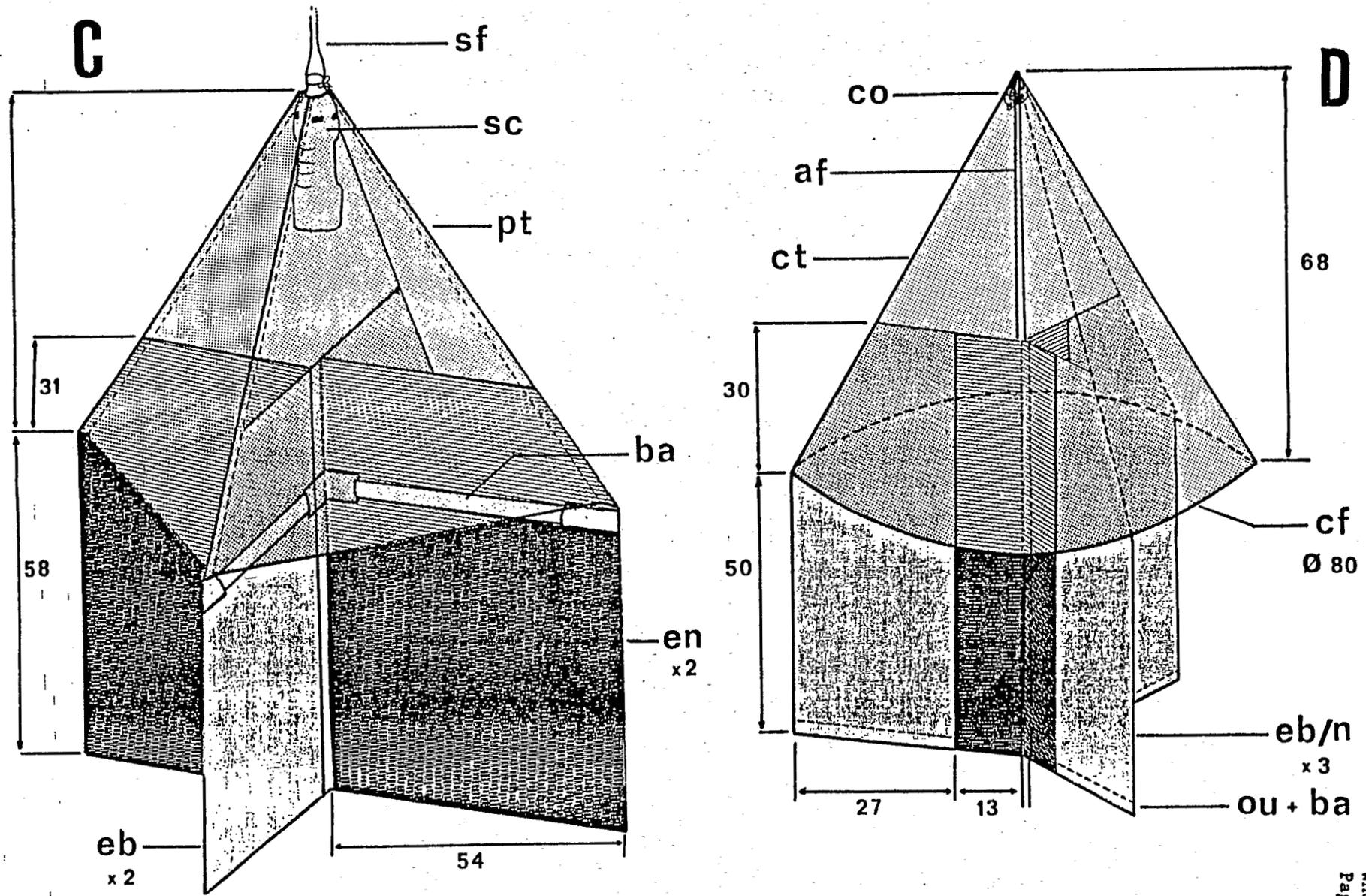


FIG. 20. Pièges à glossines utilisés lors des campagnes de lutte contre la maladie du sommeil (les cotes sont exprimées en centimètres) : A = piège biconique (Challier et Laveissière, 1973); B = piège monoconique (Lancien, 1981); C = piège pyramidal (Gouteux et Lancien, 1987); D = piège "Vavou" (Laveissière et al., 1987); af = axe en fer; ba = baguette plastique (piège C) ou en bois (piège D); cb = boule de coton; cp = cône en PVC transparent; ct = cône supérieur en tulle moustiquaire; eb = écran bleu électrique; eb/n = écran bleu/noir (coton/polyester bleu et voile polyamide noir); en = écran noir; ou = ourlet de 3 cm; ov = ouverture; pt = pyramide en tulle moustiquaire; sc = système de capture (bouteille ou sac plastique); sf = système de fixation (suspension).

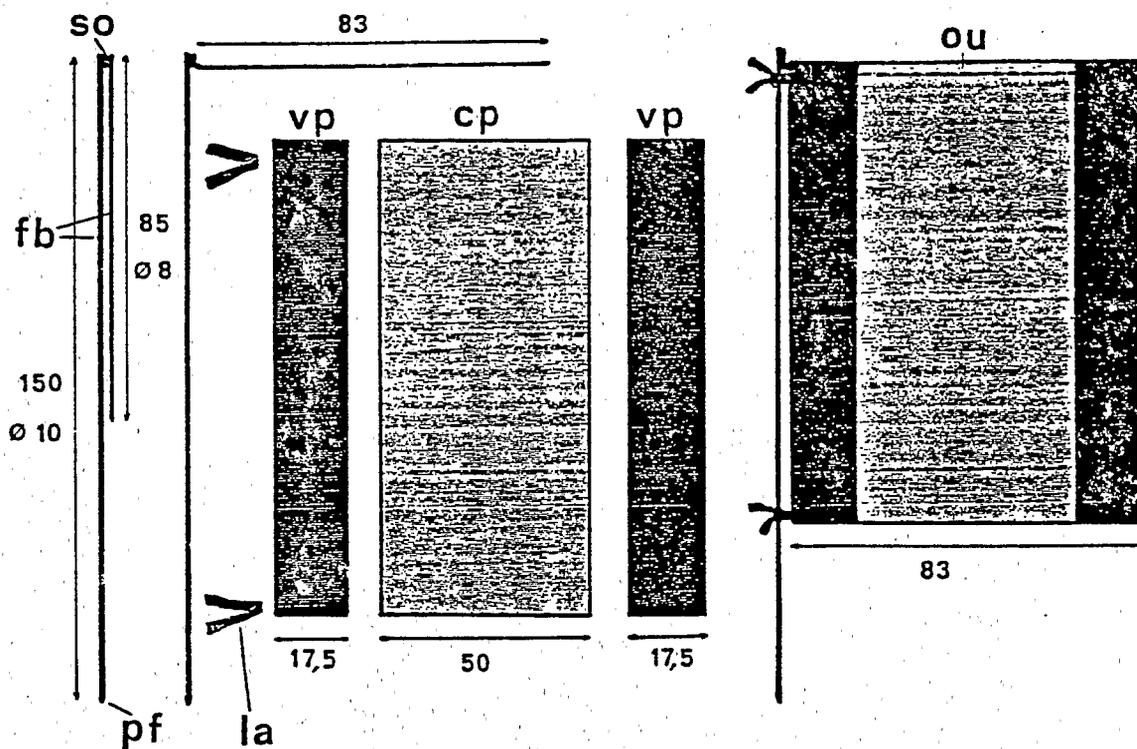


FIG. 21. L'écran noir/bleu/noir utilisé pour la lutte contre les glossines d'intérêt médical en zone forestière de Côte d'Ivoire (les cotes sont exprimées en centimètres). cp = tissu coton/polyester bleu électrique; fb = fer à béton lisse; la = languettes; ou = ourlet de 3 cm; pf = pointe forgée; so = soudure électrique; vp = voile en polyamide noir.