

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE

ANNEE 1995/1996



106 026372 6

N° 40/1

**TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE ET DIAGNOSTIC
PRÉCOCE DE LA PHASE NEUROLOGIQUE**

ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE



THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
obtenu après soutenance du

MEMOIRE
du Diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

présenté et soutenu publiquement
le 1er juillet 1996 à Limoges

par

Sylvie Bisser
née le 29 - 12 - 1965 à Strasbourg

JURY

M. le Professeur M. DUMAS Président
M. le Professeur J.C. BRETON Juge
M. le Professeur J.A. NICOLAS Juge
M. le Professeur P. WEINBRECK Juge
M. le Docteur B. BOUTEILLE Juge
M. le Professeur N. VAN MEIRVENNE Membre invité

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE

ANNEE 1995/1996

N°140

**TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE ET DIAGNOSTIC
PRÉCOCE DE LA PHASE NEUROLOGIQUE**

ETUDE CLINIQUE ET BIOLOGIQUE



THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
obtenu après soutenance du

MEMOIRE
du Diplôme d'Etudes Spécialisées de Biologie Médicale

présenté et soutenu publiquement
le 1er juillet 1996 à Limoges

par

Sylvie Bisser
née le 29 - 12 - 1965 à Strasbourg

JURY

M. le Professeur M. DUMAS Président
M. le Professeur J.C. BRETON Juge
M. le Professeur J.A. NICOLAS Juge
M. le Professeur P. WEINBRECK Juge
M. le Docteur B. BOUTEILLE Juge
M. le Professeur N. VAN MEIRVENNE Membre invité

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE MEDECINE

DOYEN DE LA FACULTE:

Monsieur le Professeur PIVA Claude

ASSESSEURS:

Monsieur le Professeur VANDROUX Jean-Claude

Monsieur le Professeur DENIS François

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS:

ADENIS Jean-Paul * (C.S)	OPHTALMOLOGIE
ALAIN Luc (C.S)	CHIRURGIE INFANTILE
ALDIGIER Jean-Claude	NEPHROLOGIE
ARCHAMBEAUD Françoise	MEDECINE INTERNE B
ARNAUD Jean-Paul (C.S)	CHIRURGIE ORTHOPEDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
BARTHE Dominique (C.S)	HISTOLOGIE EMBRYOLOGIE CYTOGENETIQUE
BAUDET Jean (C.S)	CLINIQUE OBSTETRICALE ET GYNECOLOGIE
BENSAID Julien (C.S)	CLINIQUE MEDICALE CARDIOLOGIQUE
BERNARD Philippe	DERMATOLOGIE
BERTIN Philippe	THERAPEUTIQUE
BESSEDE Jean-Pierre	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
BONNAUD François (C.S)	PNEUMOLOGIE
BONNETBLANC Jean-Marie (C.S)	DERMATOLOGIE
BORDESSOULE Dominique	HEMATOLOGIE ET TRANSFUSION
BOULESTEIX Jean (C.S)	PEDIATRIE
BOUQUIER Jean-José	CLINIQUE DE PEDIATRIE
BOUTROS-TONI Fernand	BIostatistique ET Informatique MEDICALE
BRETON Jean-Christian (C.S)	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLECULAIRE
CAIX Michel	ANATOMIE
CATANZANO Gilbert (C.S)	ANATOMIE PATHOLOGIQUE
CHASSAIN Albert	PHYSIOLOGIE
CHRISTIDES Constantin	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIO-VASCULAIRE
COGNE Michel	IMMUNOLOGIE
COLOMBEAU Pierre (C.S)	UROLOGIE
CUBERTAFOND Pierre (C.S)	CLINIQUE DE CHIRURGIE DIGESTIVE
DARDE Marie-Laure (C.S)	PARASITOLOGIE
DE LUMLEY WOODYEAR Lionel (C.S)	PEDIATRIE
DENIS François (C.S)	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE
DESCOTTES Bernard (C.S)	ANATOMIE
DUDOGNON Pierre	REEDUCATION FONCTIONNELLE
DUMAS Jean-Philippe	UROLOGIE
DUMAS Michel (C.S)	NEUROLOGIE
DUMONT Daniel	MEDECINE DU TRAVAIL
DUPUY Jean-Paul (C.S)	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MEDICALE
FEISS Pierre (C.S)	ANESTHESIOLOGIE ET REANIMATION CHIRURGICALE
GAINANT Alain	CHIRURGIE DIGESTIVE
GAROUX Roger (C.S)	PEDOPSYCHIATRIE
GASTINNE Hervé	REANIMATION MEDICALE
GAY Roger (C.S)	REANIMATION MEDICALE
GERMOUTY Jean	PATHOLOGIE MEDICALE ET RESPIRATOIRE
HUGON Jacques	HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE-CYTOGENETIQUE
LABROUSSE Claude (C.S)	REEDUCATION FONCTIONNELLE
LABROUSSE François	ANATOMIE PATHOLOGIQUE

**UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE PHARMACIE**

DOYEN DE LA FACULTE: Monsieur le Professeur GHESTEM Axel

ASSESEURS: Monsieur le Professeur HABRIOUX Gérard
Monsieur DREYFUSS Gilles - Maître de Conférences

PROFESSEURS:

BENEYTOUT Jean-Louis	BIOCHIMIE
BERNARD Michel	PHYSIQUE-BIOPHYSIQUE
BOSGIRAUD Claudine	BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE PARASITOLOGIE
BROSSARD Claude	PHARMACOTECHNIE
BUXERAUD Jacques	CHIMIE ORGANIQUE CHIMIE THERAPEUTIQUE
CARDOT Philippe	CHIMIE ANALYTIQUE
CHULIA Albert	PHARMACOGNOSIE
CHULIA Dominique	PHARMACOTECHNIE
DELAGE Christiane	CHIMIE GENERALE ET MINERALE
GHESTEM Axel	BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE
HABRIOUX Gérard	BIOCHIMIE FONDAMENTALE
LACHATRE Gérard	TOXICOLOGIE
MOESCH Christian	HYGIENE
OUDART Nicole	PHARMACODYNAMIE
RABY Claude	PHARMACIE CHIMIQUE ET CHIMIE ORGANIQUE

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

DEDICACES

A NOTRE PRESIDENT DE THESE,
Mr le Professeur M.DUMAS ,

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS DE NEUROLOGIE
MEDECIN DES HOPITAUX, CHEF DE SERVICE.

Vous avez su me guider dans mes choix et les encourager.
Je vous dois toute ma reconnaissance et mon admiration tant pour vos
réalisations, votre humanité que votre ouverture d'esprit.
Merci de m'avoir rendu ce séjour limougeaud plus Africain que prévu.

A NOTRE JUGE,
Mr le professeur J.C. BRETON,

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS DE BIOCHIMIE
BIOLOGISTE DES HOPITAUX, CHEF DE SERVICE.

Vous avez soutenu mon travail et mes démarches,
Je vous dois toute ma gratitude,
Meci pour votre sympathie et votre disponibilité.

A NOTRE JUGE,
Mr le Professeur J.A. NICOLAS,

PROFESSEUR EMERITE DES UNIVERSITÉS DE BACTERIOLOGIE,
VIROLOGIE ET PARASITOLOGIE,

ANCIEN DIRECTEUR DU LABORATOIRE DÉPARTEMENTAL
D'ANALYSES ET DE RECHERCHES DE LA HAUTE VIENNE.

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger ce travail,
veuillez trouver ici le témoignage
de notre reconnaissance.

A NOTRE JUGE,
Mr le Professeur P.WEINBRECK,
PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS DE MALADIES INFECTIEUSES
MEDECIN DES HOPITAUX.

Vous m'avez accueilli avec sympathie dans votre service.
Je vous remercie pour tout ce que j'y ai appris
et vous dois toute ma reconnaissance.

A NOTRE JUGE,
Docteur B. BOUTEILLE

MAITRE DE CONFÉRENCE UNIVERSITAIRE
PRATICIEN HOSPITALIER

Vous avez su m'aider dans mes travaux et me soutenir dans les multiples
difficultés occasionnées par cette thèse,
Merci pour votre patience, votre disponibilité et
votre sympathie.

Au Professeur N.VAN MEIRVENNE

DIRECTEUR DU LABORATOIRE DE SEROLOGIE
DE L'INSTITUT DE MEDECINE TROPICALE PRINCE LEOPOLD
(ANVERS)

Je suis honorée de votre présence à cette thèse
J'espère pouvoir avoir un jour vos connaissances , votre sens pratique et votre
simplicité pour faire avancer sur le terrain la prise en charge de la
trypanosomose humaine africaine.

Au Docteur JAUBERTEAU - MARCHAN

MAITRE DE CONFERENCE UNIVERSITAIRE
PRATICIEN HOSPITALIER

Un grand merci pour son amitié, ses conseils, sa patience, son aide et son
efficacité à tous moments.

Je dédie cette thèse à tous mes amis proches et lointains,

A ceux qui m'ont vu "souffrir" au quotidien Zoulikha, Samia, Eric et Lélia.

A mes parents, fidèles complices à tous moments

Au voyage et aux voyageurs ...

A l'origine de tout voyage, on perçoit l'envie de rompre avec l'emprise linéaire de l'espace et du temps. Celui qui voyage connaît une extension de vie, une extension de soi dont le point d'ancrage - le point de départ - reste le plus sûr moyen de ne pas faire de ce voyage une errance mais bien un parcours initiatique et donc une métamorphose. C'est dans la conscience des étendues et des limites qu'il rencontre, dans le regard qu'il leur consacre et dans le désir qu'il a de s'en affranchir ou de s'y soumettre que le voyageur détermine son aventure, lui donne un sens et construit sa cartographie personnelle.

(Le tropisme des lisières, Centre Pompidou, février 1996)

PLAN

INTRODUCTION

PARTIE I : LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE (T.H.A.)

Répartition géographique
Physiopathologie de la maladie
Signes cliniques et symptômes de la maladie
Diagnostic biologique de la maladie
Thérapeutique actuelle et orientation des recherches

PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS

- CADRE DE L'ETUDE

Historique de la situation de la THA au Congo
Nombre de cas et principaux foyers
Enquête sur le terrain
1 Questionnaire utilisé durant l'enquête
2 Le Programme National de Lutte contre la THA à Brazzaville
3 Déroulement de l'enquête

- APPORT DES EXAMENS BIOCHIMIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE DE LA THA

- QUELLE PLACE POUR LES ANTICORPS ANTIGALACTOCEREBROSIDE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE ?

- ANALYSE MULTIVARIE APPLIQUÉE A L'ETUDE DES STADES DE LA THA

PERSPECTIVES

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXE

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

Ancien fléau toujours présent et ravivé depuis ces 20 dernières années par les instabilités politiques et économiques des pays concernés, la trypanosomose humaine africaine touche 36 pays d'Afrique subsaharienne. Elle se rencontre dans plus de 200 foyers, à partir desquels se produisent des résurgences de la maladie. A l'échelon local, elle constitue un problème majeur de santé publique aussi bien qu'un problème socio-économique important. Les nouveaux cas déclarés sont au nombre d'environ 20 000 par an mais leur nombre exact se situe plus probablement autour de 200 000 à 300 000 pour une population à risque de 50 millions d'individus (Kuzoe, 1993).

L'infection est causée par deux parasites de l'espèce *Trypanosoma brucei* morphologiquement similaires mais néanmoins différents par l'hôte-réservoir, par l'espèce de glossine (mouche tsé-tsé) vectrice, par la pathogénicité et par la répartition géographique.

Trypanosoma brucei rhodesiense (*T.b.r.*), détermine une forme aiguë de la maladie (en fait c'est une zoonose transmise occasionnellement à l'homme) sévissant en Afrique de l'Est elle est transmise principalement par les glossines xérophiles et zoophiles du groupe *morsitans*.

Trypanosoma brucei gambiense (*T. b. g.*) est responsable de la forme chronique de la maladie, la "maladie du sommeil" sensu stricto touchant l'Afrique occidentale et centrale et est transmise principalement par les glossines péri-domestiques du groupe *palpalis*.

La forme aiguë de la trypanosomose à *T. b. r.* est, du point de vue clinique, rapidement invalidante ; le diagnostic en est assez aisé en milieu endémique.

Il n'en va pas de même pour l'infection à *T.b.g.* qui évolue de manière chronique et peut comporter une longue période d'incubation. Les premiers symptômes ne se distinguent guère d'un épisode grippal ou paludéen, d'autant plus qu'il est difficile de mettre les parasites en évidence dans le sang.

En conséquence, à côté de l'évolution inexorable vers la mort en l'absence de traitement, le diagnostic tardif rend le traitement plus difficile et la guérison sans séquelle nerveuse plus aléatoire. D'un point de vue épidémiologique, les malades non traités constituent un réservoir de parasites qui peut infecter la mouche tsé-tsé.

Actuellement, les progrès du diagnostic sérologique de la maladie permettent de dépister les sujets à un stade plus précoce de la maladie où aucun trouble n'est ressenti et où les signes cliniques ne sont pas évocateurs d'une participation neurologique. L'atteinte du système nerveux central (SNC) peut être très précoce (Pentreath, 1995) mais on ne dispose pas à l'heure actuelle d'outils fiables pour l'évaluer. Il est pourtant primordial de connaître précisément le stade vu la toxicité du traitement de la phase nerveuse, basé sur l'Arsobal^R. Il est en effet difficile d'admettre un risque thérapeutique mortel dans 5 -10 % des cas traités d'autant plus que la question de la trypanotolérance ou "porteurs sains" n'a jamais été réglée (Lapeyssonie, 1960).

Une des difficultés majeures dans la trypanosomose à *T. b. g.* reste l'appréciation de l'évolutivité et de la gravité de l'envahissement de l'organisme par le parasite. Les mécanismes physiopathologiques sous-jacents restent mal élucidés et le moment du passage du trypanosome dans le système nerveux central n'est pas connu avec exactitude malgré son importance pronostique et thérapeutique. En pratique, le seul moyen d'apprécier l'atteinte nerveuse repose sur l'examen cytochimique du liquide céphalorachidien (LCR) et/ou la détection du trypanosome dans ce milieu. La pathogénie de l'élévation de la cellularité n'a jamais été établie avec précision : témoin d'un processus inflammatoire, réaction méningée ou envahissement massif par rupture de la barrière hémoméningée. Le nombre de cellules correspondant à des lésions effectives du SNC reste à définir et fait l'objet du travail reporté dans cette thèse.

Les altérations marquées du LCR sont significatives de l'atteinte du SNC mais cette corrélation n'est pas systématique et les anciens auteurs l'avaient déjà décrite. A ce propos, il faut citer Martin et Leboeuf (1906-08) : "*en principe, il y a progression constante du nombre des éléments figurés (lymphocytes, monocytes) dans le liquide céphalorachidien du commencement à la fin de la maladie et, en général, à la toute dernière période de l'affection, le liquide céphalorachidien, de limpide qu'il était au début, devient quelque peu opalescent, voire même légèrement louche. Cependant bien des fois il en est tout autrement et*

chez un grand nombre de malades très avancés, le liquide céphalorachidien reste limpide comme de l'eau de roche et ne contient que très peu d'éléments figurés ", et Neujean (1950) : *"Seuls les malades à liquide rachidien et céphalique strictement normaux relèvent de la thérapeutique non arsenicale, mais l'appréciation de cette normalité nécessite un pneumoencéphale. En dehors de ces cas il est impossible actuellement de faire la démarcation entre la simple réaction méningée et l'invasion du système nerveux par le trypanosome. "*

Les progrès de l'immunologie permettent de détecter les immunoglobines du LCR qui sont produites localement (Greenwood et al., 1973) mais leur rôle et fonction restent non établis.

Une partie seulement des IgM produites possède une activité anticorps antitrypanosome (Greenwood et al., 1976). La plus grande partie des IgM possède une activité anticorps vis-à-vis de nombreux autoantigènes (Anthoons et al 1986, Hunter et al 1992, Jauberteau et al 1991, Kobayakawa et al 1979, Wolga et al 1977)

La détection directe des antigènes trypanosomiens dans le LCR serait peut-être plus à même d'établir l'envahissement du SNC par le trypanosome (Nantulya et al., 1989). Mais cette technique n'a pas encore à l'heure actuelle confirmé sa spécificité.

De nos jours, une classification des sujets atteints de maladie du sommeil basée sur le nombre de cellules du LCR est admise et en pratique courante une cytorachie > 5 éléments/ μ l et /ou présence de trypanosome affirme la deuxième période ou phase neurologique (P2); une cytorachie à 5 ou < sans trypanosome décelé affirme la première période ou phase lymphaticosanguine (P1). Les sujets dépistés sur le terrain peuvent ne présenter aucun signe en faveur d'une atteinte organique ou présenter quelques signes discrets alors que biologiquement ils sont en P2.(Boa et al., 1988). Cette délimitation paraît d' autant plus arbitraire dans ces cas là, elle est basée sur les études des anciens auteurs et n'a pas évoluée depuis. Il parait de plus en plus nécessaire de disposer d'un critère prédictif plus précis afin d'utiliser la thérapeutique disponible de façon rationnelle.

L'objet de ce travail est de contribuer au diagnostic précoce de l'atteinte nerveuse au cours de la THA. A partir d'une enquête épidémiologique portant sur des sujets malades et des témoins, que nous avons effectuée au cours d'une participation à des prospections de dépistage au Congo en 1993, nous avons réalisé des analyses biologiques sur les sérums et les LCR recueillis afin de combiner l'analyse des données cliniques à celle des données biologiques dans le but de mieux apprécier l'atteinte du SNC dans la THA. Les dosages ont été réalisés au CHU de Limoges.

Dans le sérum, le choix s'est porté vers une analyse biochimique de routine afin de noter les perturbations des différents appareils (foie, rein, métabolisme phosphocalcique et hydroélectrolytique) complété par le statut immunologique et inflammatoire (électrophorèse des protéines et dosage néphélométrique de différentes protéines). Pour compléter la recherche, nous avons intégré les nouvelles données apportées par l'utilisation d'un nouveau marqueur, les anticorps anti-galactocérobrosides (anti-GalC) (Jauberteau et al., 1990) ainsi que les anticorps spécifiques de classe G, A, M anti - trypanosomes (LiTat 1-3, 1- 5 et 1- 6) dosés à l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Pr Van Meirvenne, Dr Büscher)

Dans le LCR, nous avons effectué une étude de la perméabilité de la barrière hémoméningée, un dosage des IgG et des IGM par néphélométrie, de la protéinorachie, une étude des anticorps anti-gal C et des anticorps spécifiques anti-trypanosomes de classe IgG, IgA et IgM. Une analyse statistique multivariée nous a permis d'analyser les différentes données entre elles en combinant les données cliniques avec les données biologiques quantitatives et qualitatives.

L'ensemble de nos travaux personnels effectués sur le terrain au Congo et au laboratoire à Limoges est présenté sous la forme de 3 articles :

- Apport des examens biochimiques dans le diagnostic de la phase nerveuse de la THA.
- Quelle place pour les anticorps antigalactocérobrosides dans le diagnostic de la phase nerveuse de la THA ?
- Analyse multivariée appliquée à l'étude des stades de la THA.

Ces 3 articles sont précédés d'une mise au point concernant les connaissances actuelles sur la
THA.

PARTIE 1 :
LA T.H.A.

I Epidémiologie

1 Répartition géographique

La THA est endémique en Afrique dans les régions peuplées par les glossines vectrices de la maladie. La limite écologique de distribution des glossines forme approximativement une bande située entre le 14^e degré de latitude Nord et le 29^e degré de latitude Sud . Dans cet espace, la maladie du Sommeil est répartie en foyers circonscrits dont le nombre est d'environ 200 (fig.1). Le territoire des glossines représente cependant un plus vaste espace équivalent à environ la moitié du continent africain.

Durant les années 1950 les efforts de lutte contre la maladie étaient presque parvenus à un certain contrôle de la maladie. Les instabilités politiques et économiques qui ont suivi la décolonisation ont favorisé la reviviscence des foyers .

Vingt milles à 25 000 nouveaux cas sont déclarés chaque année mais les informations réelles et complètes manquent par l'absence de dépistage systématique et de relevés nationaux exhaustifs. Il faut noter l'ampleur de l'endémie au Zaïre avec une situation épidémique à l'Est de Kinshasa (prévalence de 70% dans certains villages); la prévalence globale dans ce pays serait de 3 à 5% ; les chiffres de 1994 font état de 200 000 personnes atteintes, (tableau I)

(Cattand, 1994). On peut citer également le Congo avec 800 malades dépistés en 93 ; la République Centrafricaine, l'Ouganda et la Tanzanie où la prévalence de la maladie atteint 5% de la population.

Il est vrai que la THA ne représente que peu de cas par rapport à d'autres endémies parasitaires telle que le paludisme : 500 millions de cas avec 2 à 3 millions de décès par an. La maladie de Chagas, la schistosomose, la leishmaniose et l'onchocercose touchent chacune 10 à 40 fois plus de personnes, mais la THA est la seule maladie où sans diagnostic ni traitement la mort survient inexorablement.

Tableau I : Répartition des cas de THA dans le monde de 1977 à 1994 (d'après Cattand P., 1994)

PAYS	POPULATION TOTALE(M)	POPULATION A RISQUE	1977	1978	1979	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	
ANGOLA	11,1	3	118	337	170	306	145	163	88	252	1105	1272	810	1191	1557	1498	2094	2406	1796	1274	
BÉNIN	0,7	/	5	2	3	1	0	2	2	1	2	2	3	1	1	0	0	2	1	/	
BOTSWANA	1	/	26	13	/	/	/	/	5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
BURKINA FASO	6,6	3	82	74	62	64	132	152	44	43	/	/	/	37	41	23	33	/	/	30	
BURUNDI	4,4	0,005	/	/	/	/	/	/	0	0	/	/	/	/	/	/	/	21	3	/	
CAMEROUN	9,1	1	18	428	607	635	257	414	1038	1100	633	1102	585	441	109	86	69	21	3	24	
CENTRAFRIQUE	2,4	0,1	117	79	130	111	73	74	459	426	473	140	67	170	154	308	197	520	126	213	
CONGO	1,6	0,5	184	137	235	351	626	539	252	439	436	561	391	302	567	642	580	703	727	650	
CÔTE D'IVOIRE	9,1	4	269	502	391	428	378	410	253	289	/	/	235	/	/	187	205	192	62	220	
ETHIOPIE	33,6	0,1	38	74	30	15	16	44	15	72	70	291	366	98	63	36	45	30	85	27	
GUINEE EQUATORIALE	0,3	0,3	/	/	/	/	/	56	184	194	168	/	/	/	/	/	174	/	/	150	
GUINEE	5,1	2,5	/	/	27	5	4	11	16	89	63	59	4	/	/	/	45	/	/	/	
GUINEE BISSAU	0,8	0,3	4	29	27	427	345	209	70	1	3	2	31	32	29	80	45	/	/	/	
GABON	1,1	0,4	63	117	254	254	239	15	17	5	7	11	7	7	4	3	7	/	/	/	
GAMBIE	0,5	0,1	/	/	/	/	18	17	23	5	/	/	/	/	/	/	90	12	/	/	
GHANA	12,7	3,5	57	42	34	24	18	40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	12	/	/	
KENYA	18,7	0,7	7	/	13	/	/	40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
LIBERIA	2	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
MALAWI	6,4	1,2	13	32	604	573	80	18	/	/	/	/	/	/	/	/	/	92	52	19	
MALI	7,5	2,5	105	105	94	65	934	87	89	83	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
MOZAMBIQUE	13,3	0,7	18	25	84	100	85	108	83	18	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
NAMIBIE	1,4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
NIGER	5,7	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
NIGERIA	89	30	467	34	604	573	80	308	/	70	211	101	219	363	673	1250	1100	1050	1150	1500	
OUGANDA	14,6	2	68	78	120	68	18	33	28	28	2158	3730	4646	6770	3081	1417	1381	1076	620	391	
OUGANDA	4	/	52	586	2076	4991	8465	1959	1329	1259	2158	3730	4646	6770	3081	1417	1381	1076	620	391	
RWANDA	5,7	0,009	2	3	3	4	0	9	7	7	8	5	10	8	/	/	/	/	/	/	
SENEGAL	6,3	/	5	2	0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	1	/	
SIERRA LEONE	3,4	0,4	/	/	/	/	/	20	1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
SOUUDAN	20,3	5	431	614	1500	1124	1163	1104	1074	1290	200	65	58	193	56	67	/	/	/	/	
SWAZILAND	0,6	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
TANZANIE	20,3	1,5	623	650	736	473	341	560	427	410	480	474	446	264	174	187	177	366	262	200	
TCHAD	4,7	0,05	104	176	93	/	/	/	19	13	45	185	219	337	357	187	21	38	73	50	
TOGO	2,7	0,7	4	17	14	11	12	6	3	5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
ZAIRE	31,1	10	3818	4390	5790	5167	4817	5103	5703	6282	7150	8769	10665	9684	9588	7515	5824	7250	11157	18858	
ZAMBIE	6,2	0,5	91	33	185	261	133	181	196	183	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	2
ZIMBABWE	7,7	/	4	0	0	0	1	/	/	2	/	/	/	/	/	/	4	3	/	1	

Italiques: T.b.rhodesiense Gras: T.b.gambienne M: millions / : données manquantes



Fig. 1 : Répartition des foyers de THA
(FAO, 1982)

2 Agents pathogènes

2 1 Taxonomie

Les trypanosomes du groupe *brucei* appartiennent à la famille des Trypanosomatidae.

Règne	Protista
Sous règne	Protozoa
Phylum	Sarcomastigophora
Sous phylum	Mastigophora
Classe	Zoomastigophorea
Ordre	Kinetoplastida
Sous ordre	Trypanosomatina
Famille	Trypanosomatidae

Tous les membres de cette famille sont parasites d'hôtes vertébrés ou invertébrés. La famille comporte 8 genres : *Leptomonas*, *Herpetomonas*, *Crithidia*, *Blastocrithidia*, *Phytomonas*, *Leishmania*, *Endotrypanum* et *Trypanosoma*. Les membres de cette famille changent de forme durant le cycle en particulier durant le passage chez l'hôte invertébré. Selon le mode de contamination, la famille est scindée en deux sections :

- Stercoraria (parasite émis dans les déjections du vecteur) comprenant 3 sous-genres dont *Schizotrypanum* comprenant l'agent de la maladie de Chagas, *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi*, dont le vecteur est une punaise ailée de la famille des Reduviidae.

- Salivaria (parasite émis par la salive au moment de la piqûre) comprend 5 sous-genres *Tejeraia*, *Dutonella*, *Nannomonas*, *Pycnomonas* et *Trypanozoon*. Le sous-genre *Trypanozoon* comprend :

-le "complexe *brucei*" transmis par la tsé-tsé avec les deux trypanosomes pathogènes pour l'homme

T. (T.) brucei rhodesiense,

T. (T.) brucei gambiense,

T. (T.) brucei brucei, responsable de trypanosomose du bétail, chevaux et antilopes (nagana).

- et 2 espèces d'importance vétérinaire :

T. (T.) equiperdum : dourine du cheval transmise lors du coït

T.(T.) evansi : surra des équidés et chameaux transmis par des tabanidés, très largement réparti dans le monde.

On ne peut différencier les parasites du complexe brucei par leur morphologie. *T.b. brucei* est infectant pour l'animal mais pas pour l'homme qui possède des HDL (high density lipoprotein) à activité trypanocide. Ceci est à la base d'un test appelé BIIT (blood incubation infectivity test) qui permet de mettre en évidence les souches pathogènes pour l'homme (Rickman ,1970).

On peut cependant actuellement arriver à une identification des trypanosomes basée sur des techniques biochimiques appliquées aux parasites présents dans la glossine. La méthode de choix à utiliser dépend du nombre de trypanosomes présent dans l'échantillon et du niveau taxonomique requis. Les sondes d'ADN basées sur des éléments d'ADN répétitifs, permettent l'identification aux niveaux sous-génériques, spécifiques ou sous-spécifiques. Ces sondes sont particulièrement utiles dans l'identification des trypanosomes dans l'intestin moyen de l'insecte où ils sont en quantité suffisante pour permettre une simple hybridation par "dot blot" (plus de 100 trypanosomes nécessaires). Pour obtenir une plus grande sensibilité, une amplification par technique PCR (polymerase chain reaction) est possible permettant l'identification des quelques trypanosomes présents au niveau de l'appareil buccal de la glossine (plus de un trypanosome nécessaire). Au niveau sousspécifique, l'analyse d'isoenzymes et du polymorphisme des fragments de restriction a permis de caractériser des isolats dans l'espèce *T.brucei*. On en vient actuellement au fractionnement de l'ADN chromosomal par électrophorèse en champs pulsé et l'étude de l'ADN par une technique analogue à la PCR mais utilisant des amorces arbitraires (RAPD ou random amplified polymorphic DNA). Cette distinction fine permet de déterminer les souches circulantes dans un réservoir donné, d'identifier le réservoir animal et d'indiquer l'origine probable lors d'une situation épidémique. Par exemple, l'analyse isoenzymatique des souches lors des épidémies récentes au Kenya (Lambwe valley) et en Ouganda (Busoga) a montré que l'épidémie est plutôt liée à une augmentation de la transmission à partir du réservoir animal qu'à l'introduction d'une nouvelle souche .

L'étude des différents zymodèmes, et l'existence d'hybridation in vivo chez la glossine ne permet plus actuellement une distinction nette entre les membres du complexe *brucei*. Il apparait que *T.b. brucei* et *T.b. rhodesiense* sont proches par leurs isoenzymes et leur ADN, alors que *T.b. gambiense* est très éloigné, pouvant constituer une espèce distincte (Gibson W.,1994).

2 2 Morphologie

2 2 1 Morphologie chez l'hôte vertébré

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés extracellulaires avec un corps en forme de feuille et un noyau plus ou moins central. Ils possèdent une membrane ondulante qui est une expansion cytoplasmique limitée à son bord externe par un flagelle qui s'insère à la partie postérieure sur un kinétoplaste et se poursuit en avant sous forme libre. Leur longueur varie de 40 µm à 15 µm (Fig. 2). Ces formes, appelées trypomastigotes se déplacent librement dans le sang circulant. Il existe un polymorphisme net avec des formes longues infectieuses pour l'hôte vertébré, des formes intermédiaires et des formes trapues dites métacycliques qui seules se développeront chez l'insecte.

2 2 2 Morphologie chez le vecteur

Arrivé dans l'intestin de l'insecte, le trypanosome métacyclique prend la forme épimastigote légèrement plus courte que la précédente avec un noyau central et un kinétoplaste juxtanucléaire. La membrane ondulante est plus réduite, le flagelle reste libre. Le parasite reprendra une forme trypomastigote métacyclique dans les glandes salivaires représentant la forme infectante pour l'hôte vertébré.

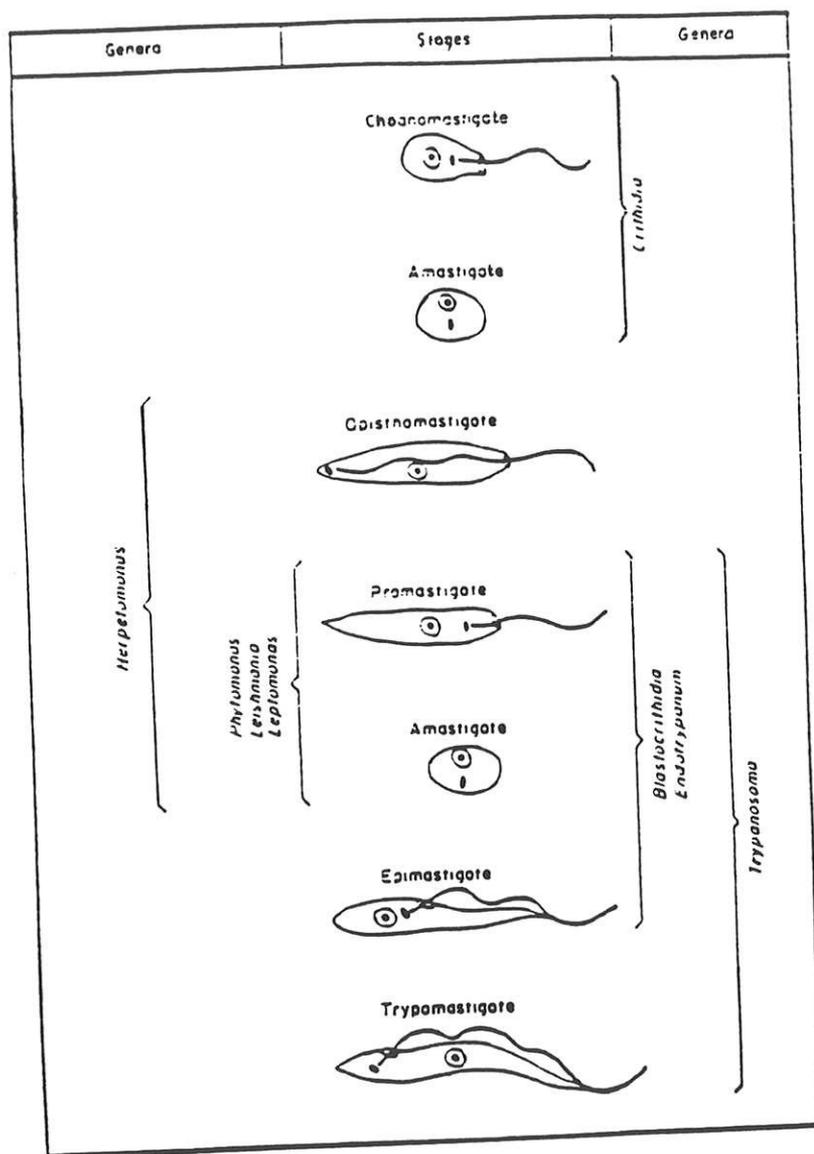


Fig. 2 : Morphologie des différents genres de la famille des Trypanosomatidae
(d'après Hoare, 1972)

2 3 Cycle évolutif (fig. 3)

Le cycle de transmission nécessite deux hôtes, un hôte vertébré (homme ou animal), un hôte invertébré (insecte du genre *Glossina*).

2 3 1 Cycle chez le vertébré (homme)

A l'occasion d'un repas sanguin, la glossine injecte des trypomastigotes métacycliques dans les tissus de l'hôte vertébré. In situ, les formes métacycliques se transforment rapidement en formes longues qui se divisent activement et sont recouvertes de leur manteau glycoprotéique de surface. Sous l'action de la réponse immunitaire de l'hôte, ces formes longues se transforment en formes trypomastigotes courtes dites métacycliques qui ne se divisent plus. Ces formes courtes ont une mitochondrie activée et sont infectantes pour la glossine lors d'un repas sanguin.

2 3 2 Cycle chez le vecteur

Toutes les formes sanguines des trypanosomes aboutissent à l'intestin moyen de l'insecte mais seules les formes courtes vont se développer. L'intestin est recouvert intérieurement par une membrane péritrophique, résultat d'une sécrétion muqueuse formée au contact du repas sanguin. Cette membrane n'est adhérente à l'intestin qu'au niveau de sa partie proximale. Les formes courtes se multiplient activement durant une dizaine de jours et migrent vers les glandes salivaires après s'être infiltrées sous la partie libre de la membrane péritrophique. Les trypomastigotes métacycliques subissent plusieurs transformations dans l'espace situé entre la membrane péritrophique et l'épithélium de l'intestin moyen pour donner des trypomastigotes procycliques qui perdent le manteau glycoprotéique de surface, puis des trypomastigotes mésocycliques proventriculaires. Les formes mésocycliques ont une mitochondrie qui va involuer lors de la migration vers les glandes salivaires où on trouve les formes épimastigotes attachées par leur flagelle aux microvillosités de la muqueuse. Ces formes se transforment peu à peu en formes trypomastigotes prémétacycliques puis métacycliques. Les formes métacycliques infectantes ont formé de nouveau un manteau glycoprotéique de surface .

Le développement du trypanosome chez la glossine vectrice est complexe et implique la présence de lectines et de signaux moléculaires. L'action protectrice des lectines est inhibée par la présence d'organismes apparentés aux rickettsies qui se transmettent d'une génération à l'autre. Dans ces conditions seulement 10% des glossines sont infectantes (OMS, 89-90).

Le cycle chez la glossine dure 15 à 35 jours et le nombre de trypanosomes métacycliques introduits dans l'organisme humain est variable. Il peut atteindre quelques milliers (HOARE, 1972).

CYCLE DE DEVELOPPEMENT ET BIOLOGIE DES TRYPANOSOMES PATHOGENES

DANS LES GLANDES SALIVAIRES

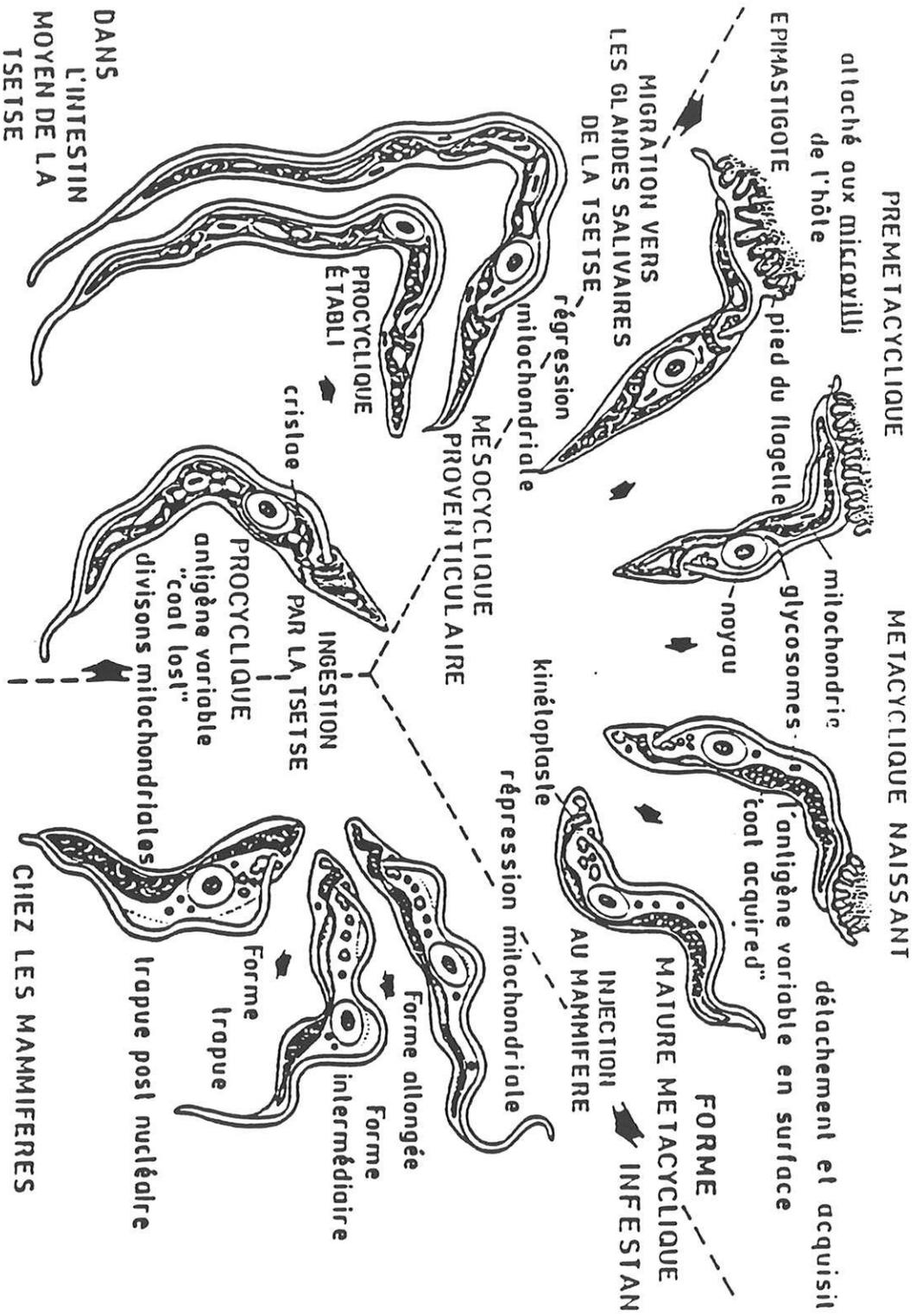


Fig. 3 : Cycle de développement et biologie des trypanosomes pathogènes (d'après Vickerman, 1985)

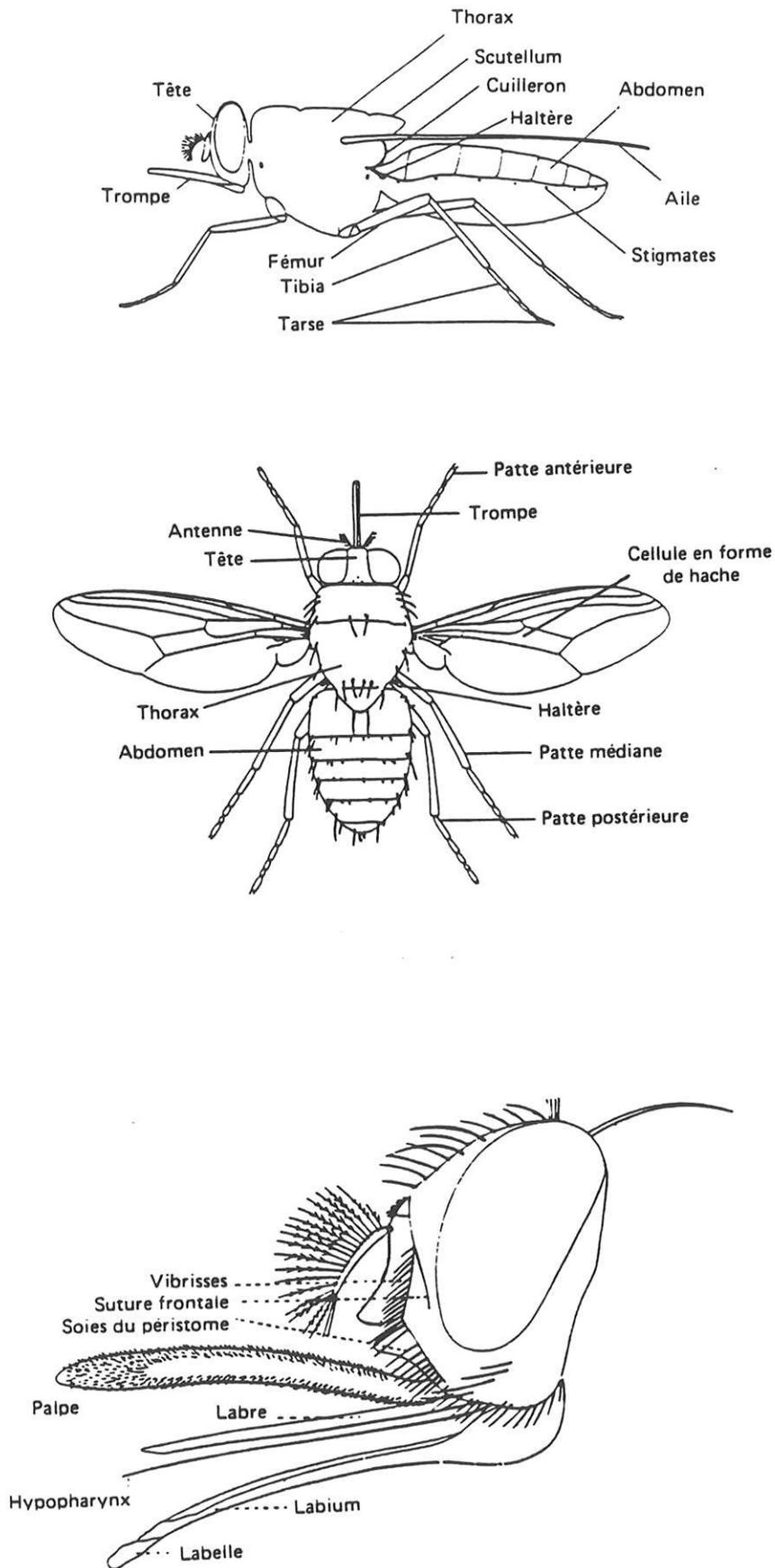


Fig. 4 : Morphologie schématique d'une glossine adulte (FAO, 1982)

2 4 Particularités du métabolisme

Le métabolisme du trypanosome a de nombreuses particularités dont la connaissance permet de mieux comprendre les données physiopathologiques et les points d'impact thérapeutiques. Le trypanosome possède un système d'expression génomique lui permettant d'exprimer de nombreux antigènes glycoprotéiques de surface. Sur le plan biochimique il possède deux particularités : un glycosome pour effectuer la glycolyse et le trypanothion, molécule intervenant dans les mécanismes d'oxydoréduction et le métabolisme des polyamines.

2 4 1 Les glycoprotéines de surface et la variation antigénique

Les trypanosomes sont recouvert d'un épais " manteau " formé d'environ dix millions de copies d'une même glycoprotéine (Cross A.M., 1990). Un parasite peut exprimer un répertoire de 1000 glycoprotéines variables de surface (GVS) différentes pour échapper aux défenses immunitaires de l'hôte (Bernards A, 1984). Un seul gène code pour une seule GVS. Le processus de variation antigénique est contrôlé par un programme génétique particulier fait de la succession des étapes suivantes : activation séquentielle des gènes, recombinaison intra et interchromosomique, expression génique liée à un site télomérique, rôle potentiel du contrôle par le manteau glycoprotéique de surface.

La copie de base d'un gène codant pour une GVS acquiert une localisation télomérique dans un site d'expression actif par duplication et transposition. La copie transposée est transcrite. L'ARNm formé est traduit au niveau des ribosomes et aboutit à une chaîne polypeptidique. Lors du passage dans le réticulum endoplasmique, l'extrémité N-terminale est glycosylée grâce à l'action de glycosyl-transférases. Dans l'appareil de Golgi, le résidu hydrophobe C-terminal est clivé et remplacé par un phosphatidylinositol. La molécule est ensuite transportée à la surface membranaire du trypanosome et incorporée dans le manteau au niveau de la poche flagellaire. Des acides gras assurent l'ancrage de la GVS dans la bicouche lipidique. Ce système d'ancrage permet au parasite de se débarrasser de son manteau sans modifier

l'intégrité de sa membrane, grâce à l'intervention d'une phospholipase qui clive la GVS en libérant une forme soluble.

L'étude précise de ces mécanismes doit permettre de trouver le point d'impact possible de nouvelles thérapeutiques ou les possibilités d'élaboration de vaccins à base d'antigènes non variants.

2 4 2 Biosynthèse des acides nucléiques du parasite

Les Trypanosomatidae n'ont pas la possibilité de synthétiser les purines *de novo* pour synthétiser des nucléotides. Une grande partie de l'ADN produit est incorporé dans le kinétoplaste associé à la mitochondrie. Cet ADN circulaire à double brin représente 25 à 30% de l'ADN des Trypanosomatidae et est formé de 10 000 minicercles de fonction inconnue et 25 à 50 maxicercles qui codent pour les enzymes des chaînes respiratoires. Le reste de l'ADN est localisé dans le noyau cellulaire.

2 4 3 Métabolisme glucidique

Les formes sanguines dépendent du glucose de l'hôte comme seule source d'énergie : un trypanosome métabolise en une heure autant de glucose que son propre poids sec, ce qui lui permet ses divisions rapides. Les enzymes nécessaires à la glycolyse sont localisées dans des organelles intracytoplasmiques spécialisées ou glycosomes. La concentration des enzymes dans un même organite permet au trypanosome un rendement énergétique très amélioré. Pour pénétrer dans le glycosome, les enzymes doivent être porteurs d'un signe de reconnaissance spécifique, le "hot-spot" qui constitue une cible thérapeutique. La glycolyse se déroule en aérobiose comme en anaérobiose et aboutit à la formation de pyruvate et de glycérol. La connaissance des différentes enzymes peut permettre de trouver des inhibiteurs spécifiques (Périé et al 1994, Fairlamb 1982)

2 4 4 Métabolisme protidique

Les trois principales polyamines, putrescine, spermine et spermidine, constituent un ensemble de bases azotées aliphatiques de faible poids moléculaire. Leur importance physiologique est grande car elles interviennent au cours de la croissance et de la différenciation cellulaire des organismes vivants, en tant que cofacteur des biosynthèses macromoléculaires et comme stabilisant de membranes (Bacchi 1981, Fairlamb 1990.). Dans le trypanosome il existe une molécule particulière , le trypanothion formé par l'association spermidine-glutathion. Ce trypanothion est un des seuls mécanismes permettant de maintenir le potentiel redox dans le parasite et peut donc servir de cible thérapeutique par son caractère unique, spécifique, fragile et saturable.

2 4 5 Métabolisme lipidique

Le trypanosome ne peut synthétiser ses propres acides gras, mais possède les enzymes nécessaires. La composition lipidique de sa membrane plasmique lui est propre et particulièrement riche en acides gras polyinsaturés permettant une grande fluidité membranaire (Breton et al, 1988). Les lipides constituent 15 à 20% du poids sec des trypanosomes africains et sont constitués à 80% par des phospholipides.

Le relargage de la phospholipase A1 par les formes sanguines en voie de lyse est important, cette enzyme pourrait augmenter la quantité d'acides gras libres qui ont des propriétés hémolytiques.

3 Le vecteur

3 1 Taxonomie et répartition géographique (Tableau II)

Les glossines sont des Diptères brachycères Muscidae, de la sous-famille des Glossinidae, dont il n'existe qu'un genre *Glossina*. On distingue 3 groupes :

- le groupe fusca. Il comprend des mouches de grande taille surtout présentes dans la grande forêt équatoriale. Ce groupe est de peu d'importance dans la transmission de la THA.

- le groupe palpalis. Il comprend 5 espèces principales, dont *G. palpalis*, *G. fuscipes* et *G. tachinoides* qui sont les plus redoutables et interviennent dans la transmission de la THA à *T. b. gambiense*.

Les deux sous-espèces de *G. palpalis*, *G. palpalis palpalis* et *G. palpalis gambiense*, se répartissent surtout dans les régions côtières entre le 16°N et le 13°S. *G. fuscipes* occupe une aire considérable en Afrique Centrale, la cuvette congolaise et le bassin hydrographique adjacent, du 8°N au 12°S. *G. tachinoides* se situe au Nord de la zone de répartition de *G. palpalis*. *G. palpalis* et *G. fuscipes* vivent dans les grandes galeries forestières. Elles sont très hygrophiles et anthropophiles; 40% des repas sanguins sont d'origine humaine pour *G. palpalis*.

- le groupe morsitans. Il comprend 5 espèces principales. Elles sont actives dans les grandes savanes de l'Afrique orientale. Ces mouches sont xérophiles, ce qui leur permet de suivre étroitement les troupeaux d'ongulés. Ils sont les vecteurs de la THA à *T.b. rhodesiense*.

T. b. gambiense

G. palpalis : sous-espèce *palpalis, gambiensis*

Angola, Bénin, Burkina Faso, Cameroun, Centrafrique, Congo, Gabon, Gambie, Ghana, Guinée, Guinée-Bissau, Côte d'Ivoire, Libéria, Mali, Niger, Nigéria, Sénégal, Sierra Léone, Togo, Zaïre.

G. tachinoides

Bénin, Burkina Faso, Cameroun, Centrafrique, Tchad, Ethiopie, Ghana, Guinée, Côte d'Ivoire, Mali, Niger, Nigeria, Soudan, Togo

G. fuscipes : sous-espèce *quanzensis, martinii*

Angola, Cameroun, Centrafrique, Tchad, Congo, Ethiopie, Ouganda, Zaïre

T. b. rhodesiense

G. morsitans : sous-espèce *morsitans, centralis*

Angola, Botswana, Burundi, Malawi, Mozambique, Rwanda, Tanzanie, Zambie, Zimbabwe

G. pallidipes

Burundi, Ethiopie, Kenya, Malawi, Mozambique, Ouganda, Rwanda, Soudan, Tanzanie, Zambie, Zimbabwe

G. swynnertoni

Kenya, Tanzanie

G. fuscipes: sous-espèce *fuscipes*

Ethiopie, Kenya, Ouganda

Tableau II : principaux vecteurs de *T.b. gambiense* et de *T.b. rhodesiense* et leur répartition géographique (d'après Molyneux et al, 1996)

3 2 Morphologie

La mouche adulte ou imago a un corps allongé, de couleur marron clair à foncé, mesurant entre 6 et 13 mm de longueur selon les espèces et la saison. Au repos, les ailes sont repliées l'une sur l'autre, en ciseau, recouvrant et dépassant l'abdomen. La tête est munie d'une trompe, qui se prolonge dans l'axe du corps, contrairement à celle des Muscinae. Des palpes maxillaires engainent le système perforant. Les antennes sont caractéristiques, trapues, à 3 segments dont le distal porte un appendice ou " arista" pourvues de longues soies plumeuses. La morphologie des organes génitaux mâles est caractéristique des espèces et des sous-espèces. (Fig.4)

3 3 Biologie et lutte antivectorielle

La distribution des glossines est déterminée par le climat et son effet sur la végétation. On peut actuellement définir précisément les limites de distribution en utilisant les moyennes de température et d'humidité mesurées par les satellites utilisés en météorologie (Rogers and Williams, 1991). Ceci permet d'établir, à partir d'indices normalisés des types de végétation (déterminés à partir de la photosynthèse qu'effectue les végétaux), leur corrélation avec l'abondance des deux groupes principaux de glossines.

Les glossines sont vivipares. La larve se développe dans l'utérus. Elle est expulsée à la 3ème mue et s'enfouit alors dans le sol, à 2 ou 3 cm de profondeur, où elle se transforme rapidement en puppe. Le développement comporte 3 stades : larve, puppe et imago.

Les pontes se font dans des endroits couverts, la larve s'enfouit dans l'humus ou dans les sols sablonneux.

A partir des gîtes permanents, les glossines essaient surtout pendant la saison favorable. La distance de vol va de 100 m à plusieurs km. En saison des pluies; leur périmètre de vol se multiplie (1 à 30 fois)

Les glossines hygrophiles (*G. palpalis*) ne volent plus lorsque le degré hygrométrique est inférieur à 70%. Les sentiers, les routes, les berges de fleuves et de rivières constituent des lignes de vol privilégiées pour ces insectes.

Les deux sexes sont hématophages. La ponte nécessite un repas tous les deux jours pour la femelle. Les piqûres ont lieu surtout aux heures chaudes de la journée. Certains animaux, tels les porcs qui circulent librement sont un attrait considérable pour ces insectes. Les glossines ont également un tropisme prononcé pour les couleurs sombres (noir, bleu foncé) ce qui est mis à profit dans l'élaboration des pièges.

Suivant l'espèce en cause le lieu de la piqûre est différent : *G. palpalis* pique le haut du corps et *G. tachinoïdes* le bas.

L'ensemble des caractéristiques comportementales du vecteur explique les différences dans les interactions hôte-vecteur. La transmission de *T. b. gambiense* est liée à des biotopes

particuliers tels les forêts galeries, les points d'eau, les villages adjacents aux rivières et aux lacs. Le maximum de transmission a lieu à la fin de la saison sèche lorsque les contacts homme-glossine sont plus fréquents. Les sujets porteurs, malades vrais ou porteurs encore asymptomatiques vont contribuer à disséminer la maladie par voie terrestre.

La transmission de *T.b. rhodesiense* est associée à des glossines zoophiles, dont le milieu de vie est la forêt et la savane. La piqûre de l'homme est souvent accidentelle : pêcheurs ou chasseurs qui pénètrent dans les zones infestées. Le cycle glossine -homme est occasionnel et l'homme ne constitue pas un réservoir habituel de la maladie. Il existe en effet des situations particulières telles en Ouganda où *G. palpalis* et *G. morsitans* coexistent dans des secteurs contigus. Un sujet contaminé par *G. morsitans* va lui-même infecter les mouches du groupe *palpalis* avec *T.b.rhodesiense* ce qui entrainera une situation épidémique avec de multiples petits foyers.

La connaissance du vecteur et de ses habitudes trophiques est importante pour permettre l'élaboration d'une lutte anti-vectorielle efficace. Celle-ci permet d'agir à la fois contre la maladie humaine et animale. Les actions sont différentes selon le vecteur, ainsi *G. palpalis* nécessite des interventions ponctuelles au niveau de son lieu de vie avec la mise en place de pièges(type Challier -Laveissière) et le défrichage au niveau de ces gîtes.*G. morsitans* dont l'aire de répartition est plus large et atteint toute la savane nécessite des opérations d'envergure : épandage aérien ou à l' aide d'atomiseur à main ou à moteur d' insecticides après reconnaissance des gîtes et calcul de la concentration convenable de produit actif

(Laveissière, 1988)

Les glossines sont sensibles aux insecticides organo-chlorés ou organo-phosphorés mais ces produits sont toxiques pour le milieu ambiant. On utilise actuellement les pyréthrinoïdes de synthèses, moins toxiques par épandage ou appliqué sur les pièges. Ces méthodes sont efficaces sur 80 à 90% de la population d'insectes ce qui nécessite la répétition des campagnes de lutte et la poursuite des actions pour être efficace.

4 Les réservoirs animaux

T. brucei peut infecter de nombreux vertébrés.

4 1 *T.b. gambiense*

Les infections à *T.b. gambiense* ont un réservoir animal qui est mieux connu actuellement par les études effectuées grâce au développement d'un système de culture in vitro à partir du sang (KIVI : kit for in vitro isolation) (Aerst et al, 1992) et de l'étude des formes procycliques de l'intestin moyen des Glossines produits en grand nombre au laboratoire.

T.b. gambiense a été retrouvé chez les animaux domestiques suivants : le chien , le porc, le mouton, le bovin et les poulets. Les animaux sauvages infectés sont le kob (*Kobus kob*) et le bubale (*Alcelaphus buselaphus*).

4 2 *T.b. rhodesiense*

T.b.rhodesiense infecte le bovin, le chien, le mouton, la chèvre et surtout de nombreux animaux sauvages (le guib harnaché -*Tragelaphus scriptus* -, le bubale, le lion, l'hyène, le kob...)

La THA, en particulier la maladie du Sommeil à *T.b. gambiense* est une maladie rurale qui se développe en l'absence de mesures préventives adaptées : piègeage des glossines et dépistage actif par des équipes mobiles. Ces mesures sont dépendantes des ressources économiques des pays et des priorités politiques permettant la mise en place et le maintien de ces systèmes de lutte.

II Physiopathologie de la maladie

1 Les manifestations biologiques observées chez l'homme

La présence du parasite dans l'organisme est caractérisée par une vascularite généralisée montrant un infiltrat périvasculaire de type lympho-histio-plasmocytaire atteignant tout l'organisme dont l'encéphale.

Dans le SNC, on note d'abord une méningo-arachnoïdite diffuse avec une atteinte de l'épendyme et une altération des plexus choroïdes qui entraîne des effractions de la barrière hémoméningée mettant en contact les cellules immunocompétentes de la circulation sanguine et le tissu nerveux. Il en résulte un processus démyélinisant d'origine auto-immune s'étendant en foyers à toute la substance blanche axiale, au centre ovale et même aux noyaux gris centraux. Les troubles du sommeil caractéristiques de la maladie ne semblent cependant pas liés à une atteinte anatomique mais plutôt à des perturbations d'origine biologique ou immunitaire.

L'anémie fait partie des signes classiquement observés. Elle est d'origine multifactorielle, résultant de l'hémolyse, de l'hémodilution et, probablement, d'une dysérythropoïèse. L'hémolyse et la phagocytose des globules rouges recouverts d'immuns complexes dans les sinusoides de la rate et par les cellules de Küpffer du foie est probablement le facteur prédominant.

La thrombopénie est habituellement observée, elle peut être importante notamment dans les infections à *T. b. rhodesiense* où elle est associée à une coagulopathie intravasculaire disséminée (Davis, 1982).

Les taux sériques de C3, C4 et du facteur B sont diminués par activation de la voie classique et alterne du complément (Bouteille et al, 1988).

Les immunoglobulines M sériques sont fortement augmentées et liées aux stimulations antigéniques multiples provoquées par les modifications successives des antigènes variables

de surface(Mattern P.1968, Greenwood et al 1973, Whittle et al 1977, Smith et al 1989). Ces IgM sont également trouvées dans le LCR où se produit une synthèse locale. Une partie seulement de ces IgM possède une activité anticorps antitrypanosomes. L'adsorption des anticorps sur des extraits de trypanosomes diminue peu le taux global des IgM. La plus grande partie des IgM possède une activité anticorps vis-à-vis d'autoantigènes (IgG agrégées, globules rouges, muscles lisses et striés, DNA et des constituants du système nerveux tels la protéine basique de la myéline, le galactocérebroside, le neurofilament (Pentreath W., 1995). Des taux élevés d'immuns complexes ont été observés chez les malades notamment en début d'infection (Lambert et al 1981)

2 Les mécanismes évoqués

2 1 Manifestations immunologiques

La pathogenèse de la maladie implique la production polyclonale anarchique d'IgM à partir d'organes lymphoïdes hyperstimulés par les parasites présents dans l'organisme. Des efforts importants ont été faits ces dernières années pour comprendre le mode d'interaction entre le parasite et le système immunitaire. Certains déterminants des GVS stimulent le système lymphocytaire B par l'intermédiaire de voies T dépendantes et indépendantes. Une partie des anticorps formés provoque la lyse des trypanosomes avec une destruction complète réalisée par les cellules de Küpffer du foie. La parasitémie décroît jusqu'à un niveau presque indétectable mais certains trypanosomes portant des antigènes variants hétérologues (représentant moins de 0,1% de la population au moment du pic) survivent pour repeupler le sang et les tissus de l'organisme. La stimulation intense des mécanismes immunitaires perturbe l'ensemble de l'organisme et provoque une réaction non spécifique des populations lymphocytaires et macrophagiques conduisant paradoxalement à une immunodépression. Les macrophages semblent avoir un rôle clé dans l'entretien de cette immunodépression, une explication possible serait une présentation inadéquate des antigènes en association avec le système majeur d'histocompatibilité de classe II.

Une autre approche concerne celui de la production anormale des systèmes de régulation tel celui des cytokines dont les modifications ont été décrites dans de nombreuses pathologies tropicales, notamment dans le paludisme.

Les différentes hypothèses sont vérifiées sur des modèles animaux ou des expériences *in vitro* mettant en évidence les interactions entre les lymphocytes T CD8 +, les macrophages et le trypanosome (Fig.5). Un facteur sécrété par le trypanosome, le "trypanosome-derived-lymphocyte triggering factor" d'un poids moléculaire de 45 kDa se lie à la molécule CD8 et active les lymphocytes T CD8+ qui vont produire de l'IFN- γ (Bonfanti et al., 1995). Celui-ci active les macrophages qui produisent du TNF- α . La réponse des deux types cellulaires est facilitée par la production de ces cytokines et par des signaux locaux. L'IFN- γ facilite la croissance du parasite, active les macrophages, inhibe la prolifération cellulaire T et notamment les lymphocytes T CD4+ par blocage des récepteurs à l'interleukine 2 (IL2). Les macrophages activés produisent du TNF- α trypanostatique, de l'interleukine 1 (IL1), des prostaglandines E2 (PGE2) qui peuvent également bloquer la production d'IL2 par les lymphocytes CD4+. L'IL2 et l'expression de son récepteur jouent un rôle important dans la réponse proliférative T et donc dans l'immunodépression si leur production diminue. Le TNF- α , outre son rôle sur le trypanosome exerce de nombreux rôles sur les cellules de l'organisme c'est une cytokine proinflammatoire en partie responsable de la fièvre, des oedèmes et de la cachexie au cours de ces affections (Lucas et al, 1993).

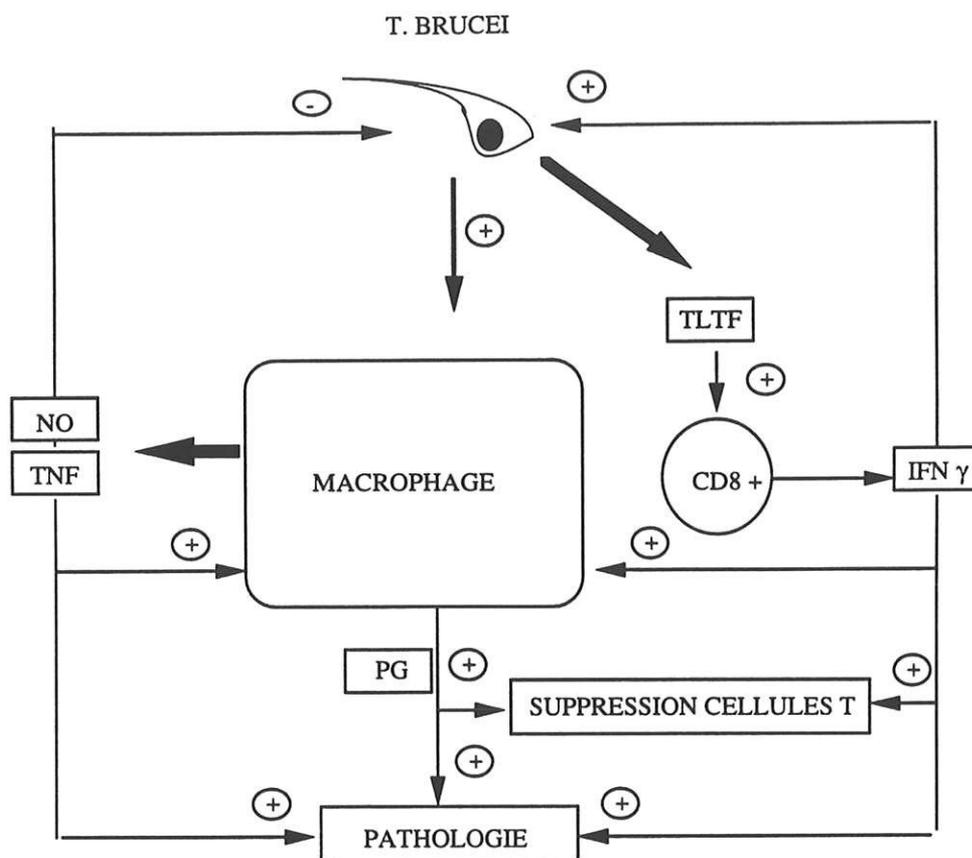
On ne sait pas si toutes les modifications du macrophage sont dues à un mécanisme unique ou si d'autres facteurs interviennent. Récemment le rôle d'une enzyme la NO-synthétase (NOS) induite par l'activation du macrophage a été mis en évidence. Cette enzyme métabolise la L-arginine en citrulline et monoxyde d'azote (NO) qui possède des propriétés anti-tumorales et anti-parasitaires, en particulier sur les leishmanies mais aussi sur les trypanosomes

(Vincendeau et al, 1992). Mise en évidence chez la souris, cette voie métabolique synthétisant le NO à partir de l' arginine, vient d'être retrouvée chez l' homme (Dugas et al, 1995). Le NO exerce également une action inhibitrice sur la prolifération lymphocytaire.

D'autres facteurs immunomodulateurs sont suspectés établissant la réalité d'une origine multifactorielle des modifications immunitaires observées. Les prostaglandines par exemple

la PGD2 retrouvée dans le LCR de patients atteints de trypanosomose peut être responsable de l'induction du sommeil (Pentreath et al 1990).

L'identification de facteurs modifiant les réponses immunomodulatrices peut permettre la mise en place de stratégies pouvant supprimer certains aspects des manifestations pathologiques immunitaires. Un ou plusieurs facteurs libérés par le trypanosome et agissant directement sur le macrophage peuvent être en cause mais ils sont encore insuffisamment étudiés.



NO : monoxyde d'azote
 PG : prostaglandines
 TLTF : trypanosome-derived lymphocyte triggering factor
 TNF : tumor necrosis factor
 IFN : interféron

Fig. 5 : Hypothèses biochimiques et immunologiques actuelles du mode d'interaction du trypanosome avec l'organisme.

2 2 Manifestations neuro-endocrines

Les études neuropathologiques mettent en évidence une infiltration diffuse de cellules inflammatoires au niveau des leptoméniges et autour des vaisseaux du parenchyme cérébral périventriculaire avec la présence de cellules de Mott. La substance blanche est le siège d'une dégénérescence multifocale. Les trypanosomes n'ont pas été retrouvés avec certitude dans le parenchyme cérébral mais plutôt dans des régions dépourvues de barrière hémoméningée : les plexus choroïdes. Comme les trypanosomes sont des parasites extracellulaires, les lésions observées seraient plutôt liées à des molécules libérées par le parasite ou à l'effet des cellules de l'organisme répondant à l'infection. Le mécanisme immunitaire en jeu est alors superposable à celui se déroulant dans le système sanguin avec des particularités liées à la localisation cérébrale (tableau III).

2 2 1 Envahissement des régions périventriculaires

Ces régions facilement accessibles devant l'absence de barrière hémoméningée correspondent entre autres à la glande pinéale, l'éminence médiane, l'area postrema ainsi que les racines dorsales des ganglions spinaux. Des substances produites par le trypanosome induiraient la synthèse neuronale d'IFN- γ qui pourrait jouer un rôle dans la physiopathologie des troubles sensitifs (Bentivoglio et al, 1994).

2 2 2 HLA 1

Le système HLA joue un rôle majeur dans la reconnaissance entre les cellules T et leurs cibles. Les antigènes de classe I ne sont pas normalement exprimés dans le système nerveux mais leur expression peut être induite par une infection virale et par la présence d'IFN- γ . Des infections expérimentales de rat par *T.b.brucei* ont montré la présence d'antigènes HLA de classe I au niveau des neurones des noyaux hypothalamiques supraoptique et paraventriculaire. Ces neurones se projettent sur l'hypophyse et l'éminence médiane où ils sont exposés à des facteurs sanguins et à des facteurs produits localement. On peut ainsi comprendre la participation de l'hypothalamus dans l'infection.

2 2 3 Modifications des rythmes veille-sommeil

Les modifications EEG observées chez l'homme et chez l'animal montrent des fractionnements des rythmes du sommeil avec des éveils fréquents et une désorganisation des phases du sommeil. Ceci correspond à des modifications des rythmes circadiens. En phase terminale, on observe des ondes lentes delta semblables à celles du sommeil mais également observées au cours d'autres types d'encéphalites (Buguet et al, 1994).

2 2 4 Modification de l'horloge biologique

Les noyaux hypothalamiques suprachiasmatiques jouent un rôle essentiel en tant que régulateur des rythmes biologiques endogènes permettant de les synchroniser avec les événements de l'environnement et notamment les phases lumière et obscurité. L'activité de ces neurones est influencée par la lumière par une interaction directe entre la rétine, l'hypothalamus et la mélatonine sécrétée par l'épiphyse. C'est la modification d'expression du gène C-fos produit par les neurones qui serait l'évènement moléculaire déterminant de l'infection. L'infection par le trypanosome peut interférer directement à ce niveau ou par l'intermédiaire de l'augmentation de l'IFN- γ (Bentivoglio et al, 1994).

Les sécrétions de cortisol, de prolactine et de rénine qui sont toutes modifiées en fonction des perturbations de l'horloge biologique confirment la dysrégulation de cette dernière au cours de la maladie du sommeil (Brandenberger et al, 1994).

 Méningite

Altération des plexus choroïdes

Entrée du parasite au niveau des régions périventriculaires

Infiltration par des cellules T CD8+ et induction de molécules HLA de classe I au niveau périventriculaire et des noyaux hypothalamiques supraoptiques et paraventriculaires.

Activation astrocytaire

Inflammation périvasculaire

Dépôt de complexes immuns et activation du complément

Rupture de la barrière hémato-méningée

Production d'autoanticorps (contre la protéine basique de la myéline, des cérébrosides et des gangliosides)

Modifications EEG vers des ondes delta permanentes

Modifications locales des transmetteurs monoaminergiques

Altération de l'expression et de la production des cytokines et des prostaglandines

Tableau III : Les différents éléments de la physiopathologie des atteintes observées au cours de la THA(d'après Pentreath, 1995).

2 3 Les substances toxiques produites par le trypanosome

Le trypanosome peut parasiter l'organisme pendant une longue durée avant d'engendrer des manifestations pathologiques. Le parasite ne produit pas de substances toxiques proprement dites mais, surtout au moment de la lyse, un certain nombre de substances peuvent expliquer l'apparition progressive des modifications pathologiques par induction immune ou biochimique.

Le parasite métabolise le tryptophane en dérivés indoliques qui peuvent avoir des effets inducteurs de sommeil.

Les exoantigènes libérés stimulent la production d'anticorps entraînant la formation d'immuns complexes qui vont à leur tour activer le complément, le système kinine-kallicréine et de ce fait la production d'histamine, de bradykinine pouvant avoir des effets pathologiques.

Le rôle possible d'endotoxines est également évoqué.

On connaît de plus en plus d'éléments expliquant la pathogenèse mais le phénomène de tolérance qui existe pour certaines espèces animales et également l'homme reste à notre connaissance sans explication. Un cas troublant célèbre est celui de Féo, une Togolaise dont le trypanosome a été décelé en 1938, à l'âge de 7 ans. Elle s'était vraisemblablement

contaminée à l'âge de 4 ans et 25 ans plus tard le parasite n'était toujours pas retrouvé dans le liquide céphalorachidien (Lapeyssonie 1960, Bajyana Songa et al 1991)).

III Signes cliniques et symptômes de la maladie

Les signes de la maladie sont très variés et de nombreux symptômes sont peu spécifiques (Bertrand et al 1973). L'infection se caractérise par une fièvre intermittente avec un envahissement progressif du système réticuloendothélial (SRE), du système endocrine et plus tardivement du système nerveux.

1 Le trypanome

L'élément princeps est le chancre d'inoculation visible uniquement dans la forme aiguë et qui se développe quelques jours après la piqûre. Il se présente sous la forme d'un érythème induré réalisant un pseudofuroncle ne suppurant jamais. Ce chancre peut persister plusieurs semaines et l'on peut y détecter des trypanosomes.

2 La phase lymphatico sanguine

C'est la phase de généralisation de l'infection caractérisée par la dissémination des trypanosomes à tout l'organisme et par la réponse du SRE.

En l'espace de quelques jours à quelques semaines se développe une fièvre modérée 38° à 38°5 d'évolution anarchique. Elle ne cède pas aux traitements symptomatiques habituels. Elle peut s'accompagner de céphalées, de malaises, d'une perte de poids, de myalgies ou d'arthralgies.

On peut noter des éruptions cutanées fugitives à type de larges plaques érythémateuses, les trypanides. Ces lésions apparaissent principalement sur le tronc et sont difficilement visibles sur peau noire. Le prurit est caractéristique mais n'a de valeur qu'en l'absence de filariose associée, les zones géographiques de ces deux affections se recoupant. Un oedème des tissus sous-cutanés prédominant à la face donne au sujet un aspect bouffi.

Les adénomégalies surtout cervicales postérieures et sus-claviculaires ainsi que l'hépatosplénomégalie caractérisent l'envahissement de tout l'organisme. Les atteintes d'autres organes tels le coeur à type de myocardite et de troubles modérés de la conduction ou l'appareil digestif (diarrhée) peuvent être liés à des mécanismes immunoallergiques.

Des signes neurologiques existent déjà en phase précoce témoignant de l'invasion méningée. On note l'existence de céphalées, d'une asthénie, de troubles sensitifs à type de paresthésie des extrémités et d'hyperesthésie profonde (signe de Kérandel) (Nozais, 1988). Il existe également à ce moment des signes montrant une atteinte diencéphalique hypotalamo-hypophysaire : stérilité, impotence, aménorrhée, avortement chez les femmes, troubles de la faim et de la soif.

Tous ces signes peuvent coexister, mais le plus souvent ils se polarisent sur quelques signes ou ils sont totalement absents.

3 La phase de polarisation cérébrale

Les signes de la première phase s'atténuent mais la fièvre persiste. Au fur et à mesure que la maladie progresse les signes neurologiques se concrétisent. La détérioration mentale s'accroît avec une altération progressive des fonctions supérieures. L'individu devient apathique, indifférent à son entourage, sa démarche est trainante. Les manifestations psychiatriques sont fréquentes, le caractère se modifie, le sujet présente des épisodes d'agitation, des comportements agressifs pouvant aller jusqu'au raptus, des phases d'euphorie ou au contraire de profonde dépression. Les cycles de veille et de sommeil s'alternent avec l'existence d'une somnolence diurne contrastant avec l'agitation nocturne.

Les troubles moteurs s'installent avec des troubles du tonus, des mouvements anormaux variables dans leur localisation et leur symptomatologie (Dumas et al 1988, 1991, 1995). Une ataxie, des modifications des réflexes ostéotendineux qui deviennent vifs avec une résurgence des réflexes archaïques. Le malade ressemble alors un peu à un parkinsonien. Les troubles de la sensibilité superficielle et profonde apparaissent précocement persistent .

Tous ces signes sont moins constants dans la THA à *T.b. rhodesiense* qui évolue sur un mode aigu dans un intervalle de 6 - 9 mois avec une prédominance des atteintes viscérales (myocardite aiguë).

4 Phase terminale

En l'absence de traitement, la maladie évolue vers la "cachexie sommeilleuse terminale" (Gentilini et al, 1986) due au processus démyelinisant auto-entretenu et créant des lésions irréversibles. Les troubles de la conscience se majorent, aboutissent à un état de démence ou au coma. Des crises épileptiques surviennent. L'état général se détériore et le malade meurt de cachexie ou d'une infection intercurrente, pulmonaire le plus souvent, probablement liée à l'immunodéficience.

IV Diagnostic biologique de la maladie

Les signes cliniques de la maladie, particulièrement dans sa phase initiale sont similaires à ceux causés par d'autres organismes infectieux et nécessitent donc une recherche spécifique de l'agent causal.

1 Détection du parasite dans les liquides biologiques

1 1 Examen du chancre d'inoculation

Cet examen est rarement réalisé car le chancre d'inoculation n'est présent que quelques semaines, il est rarement décelé dans la THA à *T. b. gambiense*. L'examen consiste en l'analyse au microscope du suc dermique .

1 2 Examen d'une ponction ganglionnaire

Cette ponction concerne le plus souvent un ganglion cervical. C'est l'examen à l'état frais du liquide d'aspiration entre lame et lamelle. Il est facile à réaliser et peu coûteux mais nécessite

le regard d'un observateur entraîné qui détecte le mouvement et la réfringence du trypanosome entre les cellules lymphatiques.

1 3 Examen du sang

Les trypanosomes sont décelables dans le sang une à deux semaines après la piqûre infectante. Les vagues de parasitémie se poursuivent à intervalles irréguliers de deux à dix jours pour *T. b. rhodesiense* et de plusieurs semaines à mois pour *T. b. gambiense*.

- Sang à l'état frais

Une goutte de sang est examinée entre lame et lamelle et une observation attentive permet de noter un mouvement particulier des globules rouges lié à la proximité du trypanosome permettant ensuite de repérer le parasite qui se déplace rapidement dans le champ microscopique grâce à son flagelle.

- Etalement mince coloré

Cette technique permet d'observer le trypanosome sur un étalement sanguin en fine couche monocellulaire coloré au May-Grünwald-Giemsa.

- Goutte épaisse

Cette technique permet d'observer un volume sanguin plus important mais est sujette à de nombreux artéfacts soit par destruction des parasites soit par la présence de fibrine simulant une membrane de trypanosome.

- Centrifugation en tube capillaire (technique de Woo, 1970)

Dix μ l de sang frais sont centrifugés à grande vitesse dans un capillaire hépariné puis on examine au microscope la couche leucocytaire. Le capillaire est placé dans la fente d'une lame porteuse que l'on remplit d'eau ou d'huile afin de diminuer la diffraction de la lumière

par la paroi du capillaire. Cette technique est simple, rapide et plus sensible que les précédentes.

- Quantitative buffy-coat ou QBC (Bailey et al, 1992)

La paroi intérieure d'un capillaire est recouverte d'acridine orange (fluorescent) , d'un anticoagulant et un flotteur cylindrique ayant le même poids spécifique que les éléments de la couche leucocytaire. Le sang est mis en contact puis centrifugé et les différents composants sont séparés suivant leurs poids moléculaires. La lecture se fait juste au-dessus de la zone des leucocytes où les trypanosomes mobiles sont marqués et colorés, sous microscope à fluorescence, par l'intermédiaire de leur noyaux dont l'ADN a fixé l'acridine orange.

- Mini - colonne échangeuse d'ions (Lumsden et al , 1981)

Cette technique permet d'améliorer nettement la sensibilité de la recherche parasitologique 500µl de sang hépariné peuvent être examinés. La colonne est remplie de DEAE-cellulose, équilibré dans un tampon glucosé de force ionique et de pH fixes pour maintenir une charge électrique statique de surface. Lorsque le sang s'écoule les éléments cellulaires sont retenus par le gel mais les trypanosomes moins chargés en anions s'écoulent avec le tampon et le plasma. L'éluat est recueilli dans un tube spécial pouvant être centrifugé puis examiné au microscope (OMS, fiche technique 1983)

Ces différentes techniques sont de sensibilités croissantes et rappelés dans le tableau IV. (Herbert et lumsden,76).

Technique utilisée	Seuil de détection (nombre de trypanosomes /ml)
Sang frais	100
étalement mince coloré	100
goutte épaisse	40
centrifugation en tube capillaire	15
QBC	15
m - AECT	5

Tableau IV: sensibilité des techniques parasitologiques

1 4 Examen de la moelle osseuse

On peut y détecter le trypanosome après ponction sternale.

1 5 Examen du liquide céphalorachidien

A l'examen direct lors du compte des cellules, les trypanosomes peuvent être mis en évidence grâce à leur mobilité quand l'examen est fait rapidement après la ponction. Cependant il est plus rentable de centrifuger soit une fois pendant 10 minutes avec lecture entre lame et lamelle du sédiment soit en reprenant le sédiment dans un tube capillaire que l'on centrifuge à nouveau (technique de la double centrifugation) pour examiner au microscope le culot du capillaire (OMS 1983, fiche technique).

1 6 Culture à partir des produits biologiques

Il existe des techniques de culture des trypanosomes *in vitro* sur des couches monocellulaires de fibroblastes humains ou animaux. Actuellement, on peut également les cultiver sur milieux acellulaires. Une technique de terrain a été mise au point, le milieu KIVI (Aets et al, 1992) qui permet en ajoutant 10 ml de sang au milieu de révéler la présence de trypanosome après 2 à 4 semaines. Une culture équivalente est possible avec du LCR et montre que 60 % des sujets inoculés négatifs à la double centrifugation se positivent après culture indiquant la faible sensibilité de l'examen parasitologique et montrant l'intérêt de cette technique (OMS, 91).

1 7 Inoculation aux rongeurs

Elle ne pose pas de problème pour *T. b. rhodesiense*. Mais le parasite ouest africain s'adapte mal aux animaux surtout lorsqu'il provient d'un hôte humain. Certains rongeurs sont plus réceptifs tel *Mastomys natalensis* et *Microtus montanus* (Brun et al, 1983); une parasitémie importante n'est souvent obtenue qu'après plusieurs passages. Une inoculation négative ne pourra dans ces conditions pas avoir de valeur diagnostique.

On peut éventuellement obtenir une parasitémie plus intense en prenant des rongeurs jeunes ou immunodéprimés (corticothérapie, cyclophosphamide).

1 8 Xénodiagnostic

Il est très utilisé comme moyen diagnostique dans la maladie de Chagas mais est de peu d'intérêt dans la trypanosomose car les glossines sont difficiles à élever et le taux d'infection est faible.

1 9 Détection d'antigènes

La recherche des anticorps ne permet pas d'affirmer la présence du trypanosome et donc de la maladie. Ils sont le reflet d'un contact avec l'antigène qui peut être ancien. La détection directe d'antigène dans le sérum et le LCR serait un moyen diagnostique fiable pouvant surtout pour le LCR indiquer le stade de l'atteinte. Le test correspond à un test ELISA utilisant des anticorps monoclonaux (Nantulya et al, 1992).

L'étude de la sensibilité, de la spécificité et de la faisabilité sur le terrain n'ont pour l'instant pas été validés.

1 10 Détection d'acides nucléiques

L'utilisation de sondes d'hybridation permet de détecter des parasitémies faibles, non détectables au microscope. Elle permet de caractériser des espèces et des sous espèces de trypanosomes et son intérêt est pour l'instant plus du domaine de l'épidémiologie que du diagnostic. (Gibson 1994)

2 Diagnostic biologique indirect de la maladie

2 1 Modifications hématologiques

L'anémie est un signe courant dans la trypanosomose, elle est normocytaire, se développe progressivement et est constante dans l'infection à *T. b. rhodesiense*. On peut également observer une thrombocytopénie..

La stimulation polyclonale des lymphocytes B entraîne la formation de nombreux anticorps soit des autoanticorps, soit des anticorps hétérophiles. On note un important pic des γ - globulines et des β - globulines (IgM).

Ces IgM peuvent être dosées sur le terrain par une technique de précipitation en gel (Technique de Mattern par double diffusion) ou la méthode des confettis (Technique de Cunningham) et nécessite de disposer d' anti-IgM humaine. Elles sont de réalisation peu aisée. Il existe également un test d'agglutination au latex (Rapitex - IgM, Hoechst, Behring Institute). La β 2 macroglobulinémie n'est pas spécifique de la trypanosomose ; elle s'observe cependant à des taux plus élevés que dans toutes les autres affections parasitaires, bactériennes ou inflammatoires en représentant 8 à 16 fois les valeurs normales (Mattern, 1964). Cette technique n'est actuellement plus utilisée sur le terrain.

D'autres paramètres sanguins peuvent être modifiés comme la vitesse de sédimentation (VS), les tests hépatiques, les fractions du complément, les paramètres de la coagulation et ils ont surtout été décrit dans la forme Est africaine.

2 2 Modifications du LCR

2 2 1 Les cellules inflammatoires

La cytorachie est déterminée sur une cellule de Nageotte et est représenté principalement par des lymphocytes (Neujean, 1950). Le nombre de cellules du LCR est sensé refléter la progression de l'atteinte et détermine actuellement le choix thérapeutique. La lymphocytose céphalique s'altère plus précocément que celle du liquide rachidien. Le type cellulaire prédominant quand l'altération s'accroît est le plasmocyte qui se transforme en cellule truffée de vacuoles hyalines sphériques contenant de l'IgM et correspondant à la cellule de Mott.

2 2 2 La protéinorachie

Celle ci augmente plus tardivement que la cytorachie. Elle est actuellement mesurée par des techniques colorimétriques. On considère une protéinorachie supérieure à 450 mg/l comme pathologique. (OMS, 1983)

2 2 3 Les IgM du LCR

Leur présence dans le LCR est considérée comme pathologique. La barrière hémoméningée est imperméable aux IgM sériques. (Greenwood et al, 1973) La présence des IgM est donc en faveur d'une atteinte nerveuse et leur disparition signe de guérison On considère les IgM comme pathologiques quand elles sont supérieures à 10% de la protéinorachie (Mattern 1968).

La définition exacte du stade d'atteinte méningo-encéphalitique reste difficile quand à la définition d'une limite pathologique et il reste classiquement admis qu'une cytorachie supérieure à 5 cellules et /ou la présence de trypanosomes est significative de l'atteinte nerveuse. Cependant sur le terrain une définition aussi stricte paraît souvent peu fondée en l'absence de signes cliniques. C'est la raison pour laquelle des essais successifs ont été faits pour utiliser les IgM comme signe présomptif (Mattern, 1968), puis des anticorps spécifiques (Lemesre, 1988) et des antigènes (Nantulya, 1992) sans qu'aucune technique ne soit suffisamment validée à l'heure actuelle pour être d'utilisation courante.

3 Diagnostic indirect ou de présomption

3 1 Détection des anticorps

Il doit permettre un diagnostic plus rapide mais cependant fiable par rapport à la détection du parasite. Plusieurs techniques sérologiques ont été mises au point pour détecter les anticorps et même les antigènes du trypanosome dans le sang et le LCR.

Les malades porteurs de maladie du sommeil produisent des anticorps dirigés principalement contre les GVS qui sont les plus immunogènes. La diversité des GVS est limitée pour *T.b. gambiense* car la plupart des souches expriment précocément des antigènes prédominants.

3 2 Immunofluorescence Indirecte (IFI)

Cette technique permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques éventuellement présents dans le sérum dirigés contre les antigènes variables de surface, membranaires et intracellulaires du trypanosome fixé sur un frottis. Les complexes antigène-anticorps sont mis en évidence par réaction avec un conjugué fluorescent anti -immunoglobuline humaine. Les frottis de trypanosomes utilisés sont actuellement standardisés en utilisant des trypanosomes sanguicoles *T. b. gambiense* de type LiTat 1.3 fixés et lyophilisés produit à Anvers (IMT, Laboratoire de Sérologie , Pr Van Meirvenne). Ceci permet d'obtenir des résultats comparables. Cette technique est adaptable sur le terrain en utilisant des papiers filtre imbibés de sang qui sont analysés au retour de la campagne de dépistage dans un laboratoire équipé d'un microscope à fluorescence et disposant d'un personnel entraîné à la lecture (technique des confettis de Cunningham). Cette technique peut être adaptée à l'étude du LCR (Lemesre et al, 88). Cependant, le décalage existant entre le moment du dépistage et l'interprétation du test le rend peu applicable dans des pays où les moyens de communication sont difficiles.

3 3 Agglutination sur carte (CATT)

Il s'agit d'un test d'agglutination directe sur carte de trypanosomes par les anticorps du sang, sérum ou plasma. On utilise comme antigène des trypomastigotes complets fixés et colorés au bleu de Coomassie exprimant l'antigène variable prédominant dans les principaux foyers de la maladie du sommeil à savoir *T. b. gambiense* LiTat 1.3. L'exécution du test est rapide et facile, on peut éliminer des faux positifs en effectuant le test sur sang total puis en confirmant par un test sur du sérum en dilutions successives (Magnus et al,1978). Ce test n'est pas assez sensible pour détecter les anticorps du LCR et ne retrouve pas les trypanosomes n'exprimant pas l'antigène LiTat 1-3.(Dukes et al, 1992)

3 4 Hémagglutination indirecte

Cette technique utilise des hématies de mouton sensibilisées par des antigènes solubles provenant d'un extrait total de trypanosomes sanguicoles non clonés. La réaction se déroule en microplaques et une réaction positive donne une hémagglutination des hématies qui forment un voile au fond de la microplaque. Une réaction négative est représentée par un anneau d'hématies sédimentés. La technique est de réalisation facile, on peut titrer les sérums positifs pour accroître la sensibilité et le test est applicable à l'étude du LCR (Lemesre, 88).

Il existe un test commercialisé par Behring : Cellognost. Cependant la réaction ne se produisant qu'au bout de 2 heures est peu utilisable sur le terrain.

3 5 Test d'agglutination au Latex

Ce test est en cours d'évaluation (IMT, Anvers). Il est basé sur l'utilisation d'un antigène variable le LiTat 1.6 prédominant dans la Trypanosomose à *T.b. gambiense*. Il utilise des particules de latex sensibilisées avec cet antigène. Il serait également utilisable pour le LCR (Büscher et al, 1991).

3 6 L'ELISA

Ce test est réalisé dans des plaques de microtitration en polystyrène. L'antigène est déposé puis les sites libres sont saturés par des protéines non spécifiques afin d'éviter des faux positifs par fixation d'immunoglobulines sériques sur les parois du polystyrène. Les anticorps spécifiques présents vont réagir avec l'antigène et toute autre substance est éliminée par lavage. Les anticorps fixés vont être révélés par l'addition d'un conjugué anti-immunoglobulines humaines couplé à une enzyme qui, après un dernier lavage, sera révélé par l'adjonction d'un substrat dont l'utilisation développe une réaction colorée. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents et l'on peut déterminer un seuil de positivité. Plusieurs tests ont été proposés dans le diagnostic de la trypanosomose utilisant des extraits de trypanosomes sanguicoles non définis (Roffi et al, 1979). Il faudrait parvenir à une standardisation des antigènes utilisés ou utiliser certaines protéines

recombinantes mais ces techniques restent actuellement réservés aux laboratoires spécialisés et équipés.

Le diagnostic actuel de la THA devient de plus en plus sensible par les méthodes directes et indirectes utilisées. Il reste cependant un écueil important qui concerne la définition du début d'atteinte du système nerveux. Ce diagnostic est cependant essentiel en raison de ses conséquences thérapeutiques ; il conditionne l'utilisation de médicaments efficaces mais toxiques au niveau du SNC.

V Thérapeutique actuelle et orientation des recherches

La thérapeutique de la maladie du sommeil a longtemps reposé sur l'utilisation de 3 molécules, deux actives lors de la phase lymphaticosanguine (pentamidine commercialisée en 1937 et suramine commercialisée en 1922) et un dérivé de l'arsenic pour la phase méningoencéphalitique, le mélarsoprol commercialisé en 1949 (tableau V) Leurs modes d'action sont actuellement bien établis mais leur utilisation reste basée sur les posologies établies il y a environ un demi siècle. Les principales voies de recherche tiennent compte des points d'impact possibles sur le métabolisme du trypanosome ou de la capacité des molécules à pouvoir traverser la barrière hémoméningée pour atteindre le trypanosome dans sa localisation cérébrale (Voir Fig. 6 et 7).

1 Les molécules actives à la phase lymphatico-sanguine

1 1 La suramine (Moranyl^R, Spécia)

C'est un dérivé des colorants azoïques efficace aux stades précoces des infections à *T.b. gambiense* et *T.b. rhodesiense*. La dose habituelle est de 20 mg/kg par injection. Le traitement est de 5 injections, sans dépasser 7, à raison d'une injection intra-veineuse par semaine. Des réactions graves d'hypersensibilité existent dans 1/20 000 cas surtout en présence d'une onchocercose associée (la suramine étant macrofilaricide). Les accidents d'intolérance

(fièvre, arthralgies, éruptions, neuropathie périphérique) peuvent être évités par l'administration préalable d'une dose test de 4 mg/kg.

1 2 La pentamidine (Pentacarinat^R, Roger Bellon)

C' est un dérivé de la diaminidine sous forme de sel. Ce produit est utilisé dans la phase précoce de la THA. Il peut exister une résistance primaire dans les THA à *T.b. rhodesiense*. La dose à administrer est de 4 mg/kg/jour. Le traitement est réalisé par 7 à 10 injections à raison d'une injection intramusculaire toutes les 24 à 48 heures. Après l'injection, il peut survenir un état de malaise, voire un collapsus. Les troubles cèdent à l'administration d'antihistaminiques ou de sérum glucosé hypertonique.

La " lomidinisation" prophylactique a été pratiquée pour les personnes se rendant en zone d'endémie et les populations vivant dans les foyers ; cette pratique induit des résistances au traitement et des formes frustrées évoluant vers des formes nerveuses passant inaperçues. En plus cette pratique augmente les risques d'effets secondaires représentés par la survenue d'un diabète et des douleurs locales.

2 Les molécules actives à la phase nerveuse

2 1 Le mélarsoprol (Arsobal^R, Spécia)

Il est très utilisé malgré sa toxicité car étant pratiquement le seul médicament actif en phase encéphalitique pour les deux types de THA. Il est administré exclusivement par voie veineuse car il peut provoquer des nécroses tissulaires. La concentration obtenue dans le LCR représente 1% de celle du plasma mais cette dose semble suffisante. Le produit est administré par séries de 3 injections à raison de 3,6 mg/kg par injection. Chaque série de 3 injections est espacée d'une semaine de la précédente. Le nombre de séries dépend empiriquement de la cytorachie (protocole de Neujean). Il est possible de réaliser un prétraitement en 2 à 3 injections de pentamidine ou de suramine pour stériliser le sang et les liquides interstitiels de

façon à éviter une lyse brutale des trypanosomes pouvant entraîner une réaction d'Herxheimer.

Les accidents liés au traitement sont à type de nécrose cutanée, thromboses veineuses, réaction fébrile, névrites périphériques, dermatites, diarrhée. Le principal problème est cependant représenté par l'encéphalopathie arsénicale dont le mécanisme est mal connu. La survenue de cette encéphalopathie est imprévisible et existe à tous les stades de la maladie. Elle ne dépend pas de la quantité de mélarsoprol injecté ni de l'espacement ou du rapprochement des injections. Elle survient en général entre le 6^e et le 40^e jour du traitement. Le début est brutal et le moindre signe neurologique doit faire craindre une encéphalopathie. La mort est inévitable dans la majorité des cas. On suppose un mécanisme immunoallergique à l'origine du phénomène peut-être plus fréquent quand les doses administrées sont insuffisantes pour détruire tous les trypanosomes de l'organisme. L'administration de corticoïdes pourrait en partie prévenir cette complication qui survient en moyenne chez 10% des sujets traités. Une rechute malgré un traitement bien suivi est observée dans 15% des cas.

Une étude récente sur le terrain (Doua et al, 1994) a utilisé des séries de 4 injections avec 1/3 de la dose à J1, 1/2 de la dose à J2, dose complète à J3 et J4. Avant cette série d'injections intraveineuses les patients ont reçu une dose intramusculaire de pentamidine, un traitement par corticoïdes, un traitement anti-helminthique, une supplémentation nutritive et vitaminique et une prévention anticonvulsive. Sur les 350 sujets de l'étude, 14 soit 4% ont développé une encéphalopathie arsénicale malgré toutes les précautions prises.

Une autre alternative non évaluée serait l'utilisation d'un protocole continu de 10 injections de 2,16 mg/kg/jour permettant d'atteindre un taux constant dans les liquides biologiques, la fluctuation pouvant être une des causes des rechutes.

Un autre inconvénient du traitement est la possibilité de résistance dont le nombre de cas est actuellement non négligeable (Ngampo et al, 1991).

3 Les thérapeutiques à l'essai et leurs limites

3 1 L' eflornithine ou DFMO (DL- α - difluorométhylornithine) (Ornidyl^R)

Cet inhibiteur de la synthèse des polyamines (fig. : 7) est issu de la recherche de substances anti-cancéreuses (Breton et al, 1990).

Les protocoles cliniques sur le terrain montrent une bonne efficacité et son utilisation s'est développée dans les cas de résistance à l'Arsobal. Le DFMO est de maniement plus sûr que le mélarsoprol et traverse la barrière hémoméningée mais la nécessité d'un traitement intraveineux, de 14 jours et d'une hospitalisation pose le problème du coût et des possibilités de prise en charge par les services de santé nationaux. De plus le produit n'est efficace que sur la forme gambienne de la maladie et le médicament n'est actuellement plus disponible sur le marché.

3 2 Le nifurtimox (Lampit^R)

Ce dérivé des nitrofuranes est utilisé dans la Maladie de Chagas. Il a montré son efficacité dans la trypanosomose à *T.b. gambiense* mais son utilisation reste empirique par l'absence d'études suffisantes à ce sujet. Il est également actif sur la phase nerveuse.

Il est administré per os 15-20 mg/kg trois fois par jour pendant 21 à 30 jours.

3 3 Les voies de recherche

Elles sont basées sur les connaissances actuelles du métabolisme du trypanosome et de ses caractéristiques spécifiques.(fig. 6 et fig.7)

Un vaccin n'est pas totalement exclu par la variation antigénique car la chaîne d'acide myristique liant l'antigène de surface à la membrane est un élément constant .

Le métabolisme des polyamines est très actif dans les cellules à division rapide et des inhibiteurs enzymatiques de l'ornithine décarboxylase tels le DFMO et des analogues d'utilisation plus adaptée sont recherchés tel le MDL 73811 (Marion Merrell Dow).

Le système de détoxification en réponse aux stress oxydatifs est spécifique du parasite et représenté par la trypanothion-réductase. Cette enzyme représente une des cibles des dérivés arsenicaux et du nifurtimox. Un nouveau dérivé nitro-imidazolé, le mégazol produit des résultats prometteurs dans ce même mode d'action par formation de peroxyde d'hydrogène et de radicaux libres (Marie-Daragon A. et al 1994).

Les enzymes de la glycolyse du parasite sont parfaitement étudiés et peuvent devenir la cible de nouvelles thérapeutiques (Périé, 1994).

Le problème de la thérapeutique de la THA reste double, il faut savoir déterminer le moment de l'atteinte nerveuse pour choisir un traitement efficace là où le trypanosome se localise et il faut également arriver à trouver une thérapeutique facile d'utilisation et de faible coût pour qu'elle puisse être largement distribuée dans les pays concernés.

Dans la situation thérapeutique actuelle, il reste urgent de savoir caractériser les sujets présentant un début d'atteinte nerveuse afin de leur proposer une thérapeutique adéquate. Des essais sont actuellement en cours concernant l'utilisation de la Pentamidine en début d'atteinte nerveuse, il y a un passage de 0,5 à 0,8 % de la concentration plasmatique du produit dans le LCR et le produit y reste détectable pendant un mois. Ces faibles concentrations entraînent un arrêt de la croissance du parasite *in vitro*. Il paraît donc possible de traiter par la pentamidine, moins toxique que l'Arsobal, les débuts d'atteinte nerveuse (Doua et al, 1994).

Molécule	PENTAMIDINE	SURAMINE	MELARSOPROL	EFLORNITHINE
Année	1937	1922	1949	1990
Composition chimique	diamidine	naphtylamine sulphaté	dérivé arseniqué	difluorométhyl ornithine
Mode d'administration	intra-musculaire	intra-veineux	intra-veineux	intra-veineux
Indication	Infection précoce <i>T. b. gambiense</i>	Infection précoce <i>T. b. gambiense</i> & <i>T. b. rhodesiense</i>	Infection précoce & tardive <i>T. b. gambiense</i> & <i>T. b. rhodesiense</i>	Infection précoce & tardive <i>T. b. gambiense</i>
Dosage	4 mg/kg 7-10 injections tous les jours ou un jour/2	20 mg/kg 5 injections tous les 5-7 jours	3,6 mg/kg 3-4 séries de 4 injections avec un intervalle libre de 5-7 jours	400 mg/kg (100 mg/6h) pendant 14 jours
Effets secondaires	+	+	+++	+
Souches résistantes	+	+	+	+

Tableau V : Schémas thérapeutiques utilisés au cours de la THA (d'après Kuzoe, 1993)

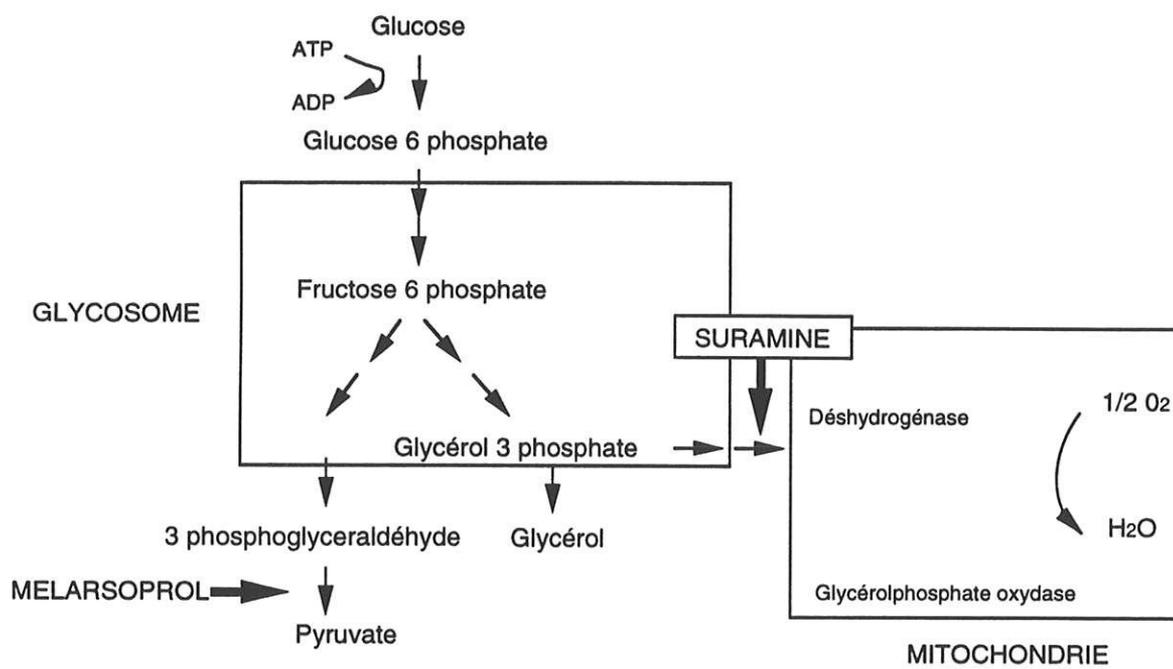
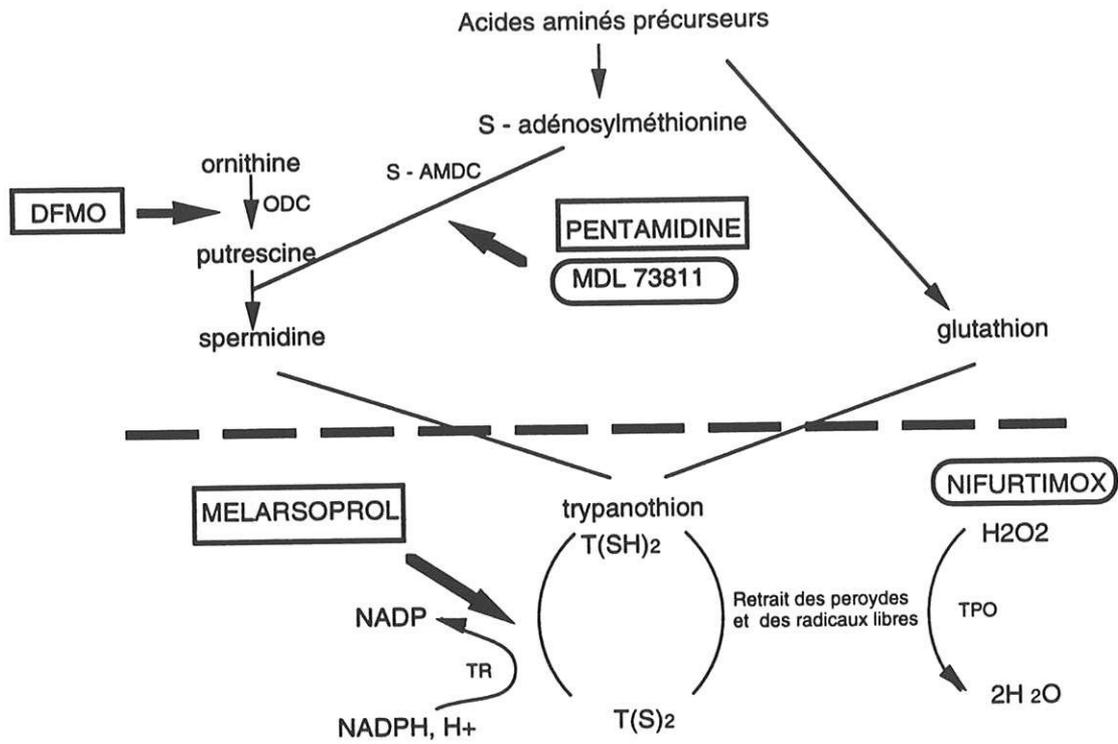


Fig. 6 : Métabolisme glucidique du trypanosome et mode d'action des thérapeutiques



ODC = ornithine décarboxylase
 S-AMDC = S adénosinéméthionine décarboxylase
 TPO = trypanothion peroxydase
 TR = trypanothion réductase

Le métabolisme présenté au-dessus des pointillés est commun à l'hôte et au parasite

□ Molécules existantes

○ Molécules à l'étude

Fig. 7: Métabolisme protidique, trypanothion et points d'impact thérapeutiques (d'après Fairlamb, 1990)

PARTIE II :

**TRAVAUX
PERSONNELS**

CADRE DE L' ÉTUDE

I Historique de la situation de la THA au Congo

Les premiers cas de THA au Congo ont été décrits en 1877, mais l'étude de la maladie et sa prise en charge débute en 1906 par une mission d'étude patronnée par la Société de Géographie et menée par Martin, Leboeuf et Roubaud (Martin et al, 1909). Cette mission révèle des taux d'infection énormes représentant 41 % des sujets examinés et 50% des travailleurs des sociétés forestières. Dans les suites de cette mission l'Institut Pasteur de Brazzaville est créé en 1908. La lutte sera interrompue par la guerre de 1914-1918 et ce n'est qu'en 1916 que le docteur Jamot mettra en place un dépistage actif de la maladie en créant le système des équipes mobiles se déplaçant sur tout le territoire alors réparti en secteurs dépassant les limites du Congo actuel et regroupant l' "Afrique Equatoriale Française". La seconde guerre mondiale déstructure un peu le travail entrepris mais à la suite de la Conférence Interafricaine de Brazzaville de 1944 est créé, en remplacement du Service Spécial de la Maladie du Sommeil, le Service Général d'Hygiène Mobile et de Prophylaxie (S.G.H.M.P.) qui est compétent dans la lutte contre les grandes endémies. Le S.G.H.M.P. garde la trame des secteurs antérieurs et son centre est basé à Bobo-Dioulasso. La lomidinisation préventive est instaurée en 1946. L'évolution favorable de la situation permet de comptabiliser à ce moment annuellement moins de 2000 nouveaux malades entre 1946 et 1950. De 1951 à 1964 les prospections trouvent de moins en moins de malades : moins de 1000 à partir de 1953, moins de 100 à partir de 1958.

Au lendemain des indépendances, les secteurs des S.G.H.M.P. deviennent des secteurs nationaux des grandes endémies et en 1963 est créée l'Organisation de lutte Contre les Endémies en Afrique Centrale (OCEAC) qui coordonne les actions entre les différents Etats. Jusqu'en 1968, 20 à 30 nouveaux malades sont dépistés chaque année au Congo. Cette amélioration produit la fausse impression que la maladie est vaincue et avec la diminution des crédits accordés à la lutte , on observe très vite une reprise de la maladie qui va en s'accentuant depuis 1970.

II Nombre de cas et principaux foyers (d'après le rapport du Projet National de lutte contre la THA, Brazzaville, 1992 et (Cattand, 1994)

Depuis les années 1980, les chiffres sont passés de 350 nouveaux trypanosomés dépistés par an à près de 700, au double traduisant un réveil des foyers d'endémie. L'instabilité politique, les irrégularités du financement des projets de lutte, le mauvais état de l'infrastructure pour accéder aux foyers se combinent pour transformer une zone à l'état hypoendémique en zone endémique. Si le contrôle n'est pas repris à ce moment, la situation peut rapidement évoluer et le nombre de cas se multiplier.

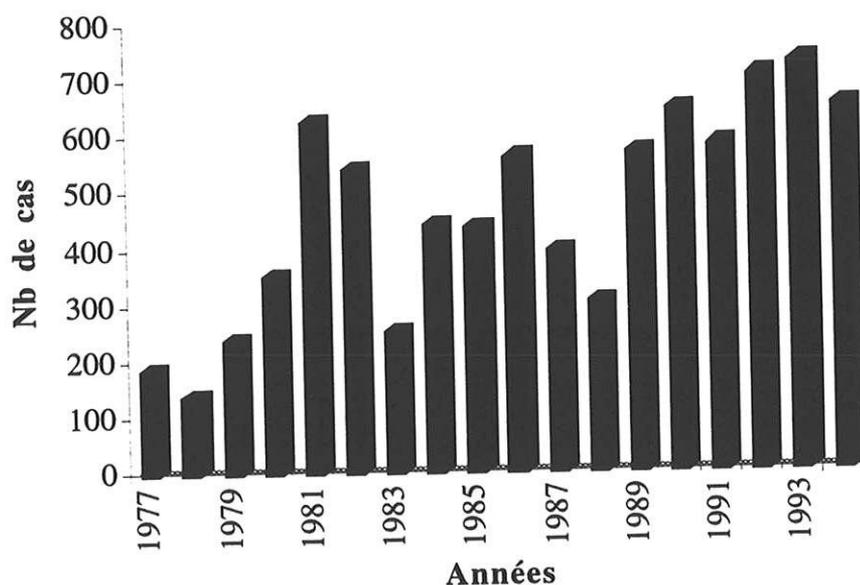


fig. 1 : Evolution du nombre de cas de 1977 à 1994

Le Congo est située en zone tropicale humide et la grande forêt équatoriale recouvre la moitié du pays : 2 petits massifs au Sud du pays et la grande forêt du Nord représentée par la région de la Sangha et celle de la Likouala. Le reste du pays est recouvert par une savane arboisée entrecoupée de nombreuses forêts-galeries le long de l'important réseau hydrographique du Congo : c'est dans ces zones, que les glossines vectrices de la THA ont élu domicile.

On dénombre actuellement 2 principaux foyers de la THA (fig. 2) : l'un au Sud, celui de la Bouenza et le deuxième moins bien délimité s'étend au Nord le long du fleuve Congo depuis les plateaux Batékés (région du Pool) jusqu'à la forêt du Nord (région de la Likouala, foyer de la Cuvette).

Le foyer de la Bouenza a bénéficié de prospections successives ces dernières années et en 1992 sur 765 malades pris en charge par le projet national de lutte contre la THA, 540 (76%) étaient originaires de la Bouenza, plaçant ce foyer au premier rang pour le Congo.

Cependant le manque d'accessibilité du foyer fluvial notamment dans la région de la Cuvette (route la plus proche à 300 km du point proximal du foyer) et la dispersion des malades qui vont se faire soigner au Zaïre limitrophe, plus proche que la capitale; Brazzaville, rendent les statistiques difficiles.

En 1992, 109 nouveaux trypanosômés (15%) ont été dépistés passivement à Brazzaville, mais ceci n'est qu'un reflet lointain de la réalité comme semble le montrer une enquête réalisée dans la Cuvette en 1989 (Jannin et al. 1992).



Fig. 2 : Les principaux foyers de la THA au Congo

III Enquête sur le terrain

1 Questionnaire utilisé durant l'enquête (cf annexe)

Il a été élaboré à l' Institut de Neurologie Tropicale de Limoges par un groupe de neurologues et de tropicalistes lors du Symposium de Neurologie Tropicale sur la Trypanosomose qui s'est tenu à Limoges en 1987, sous l' égide de l' OMS.

Il synthétise les données d'un examen clinique complet avec interrogatoire tel qu'on peut l'effectuer pour un patient en consultation : interrogatoire sur les symptômes et les antécédents, examen de tous les appareils et analyse de toute la séméiologie neurologique afin de ne pas laisser passer un signe de début d'atteinte du SNC.

Il a été complété par le recueil des examens complémentaires réalisables sur place : sérologie (CATT, IFI), résultat parasitologique de la centrifugation en tube capillaire, ponction ganglionnaire, ponction lombaire, mesure de l'hématocrite et détermination de la formule sanguine sur frottis sanguin après coloration.

2 Le programme National de Lutte contre la THA (PNLTHA) à Brazzaville

L'enquête a été réalisée au sein du programme de lutte mis en place par le secteur de la médecine préventive. Le projet THA élabore le programme des tournées de dépistage en fonction de la situation épidémiologique et des financements disponibles ; il suit les malades hospitalisés au CHU et effectue un dépistage passif des sujets qui viennent consulter à leur base. Il dispose d'une équipe mobile qui compte une douzaine de techniciens familiarisés aux pratiques du dépistage.

Durant les 6 mois de notre présence sur le terrain, 4 enquêtes ont été réalisées : 2 dans la Bouenza (districts de Nkayi, Loudima, Mouyondzi) (tableau 1, 2 ; fig. 3) et 2 le long du fleuve (districts de Ngabé, Gamboma, Djambala) (tableau 3, 4 ; fig. 4).

Au total 21 166 sujets ont été investigués lors des prospections, permettant la découverte de 385 trypanosomés regroupant les suspects biologiques (test sérologique positif) et les nouveaux trypanosomés (malades confirmés parasitologiquement) ; soit un taux global de 1,8% de sujets trypanosomés dépistés .

DISTRICT DE NKAYES ET LOUDIMA :	
LOCALITES DEPISTEES	
LAKA-LENGO	
KINDOUNGA- KINTOUMBA	POPULATION RECENSÉE (1984) : <u>2627</u>
MVOUANDZI- MOUYONDZI	POPULATION VISITEE : <u>2433</u>
NGOUMGA-KIOSSI	POURCENTAGE DE
LOUADI	PARTICIPATION : <u>93 %</u>
LOMBO MOULOUMDOU 1 ET 2 YOULOUNKOYI	
MAKUTU LENGOLO KIMBEMZA	
KIKOLE MOULOUMDOU 3 MBAYE LOANGO KIMENI MBOUMA	
	NOMBRE DE TRYPANOSOMES : SB : 11 NT : 8
	ICN : 0,78 %

Tableau 1 : Total des prospections dans le district de Nkayes et de Loudima

DISTRICT DE MOUYONDZI :	
LOCALITES DEPISTEEES	
MAKOMDO-MABENGUE	
KIMPOMBO-BAC	POPULATION RECENSÉE (1984) : <u>7689</u>
NDINGUI	POPULATION VISITEE : <u>7423</u>
MIDIMBA	POURCENTAGE DE
NKILA	PARTICIPATION : <u>96%</u>
MOUDZANGA	
KINIANGUI	
N' SONSO	
YAMBA	NOMBRE DE TRYPANOSOMES : SB : 65 NT :10
MBOUMBOU 1 ET 2	ICN : 0,87
MASSANGUI	
LOULOMBO	

Tableau 2 : Total des prospections dans le district de Mouyondzi

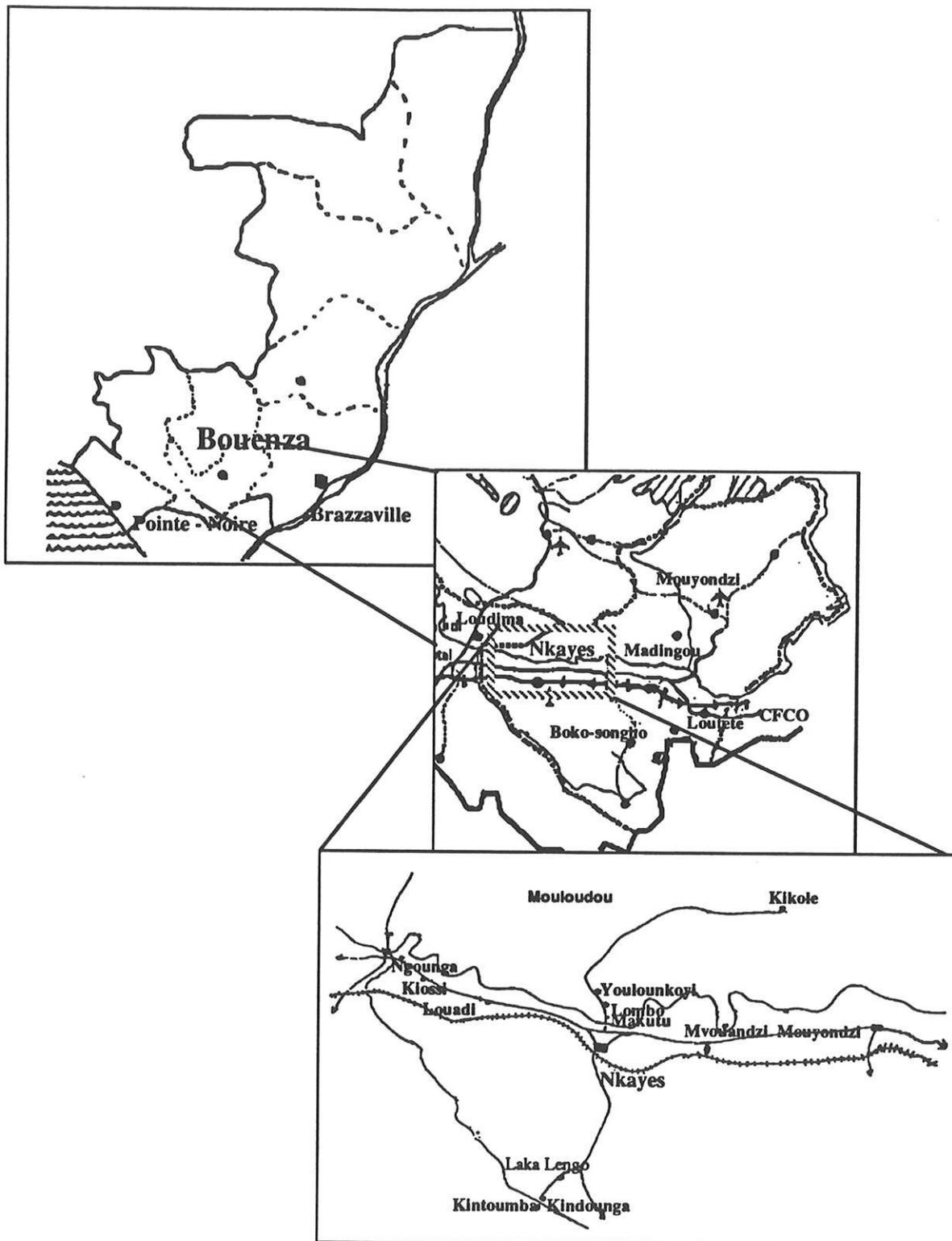


Fig. 3 : Prospection dans la Bouenza, district de Nkayes et Loudima

DISTRICT DE NGABE :	
LOCALITES DEPISTEES	
M'BE	
OKIENE-PENIKE	POPULATION RECENSÉE (1984) : <u>6259</u>
N'GABE	POPULATION VISITEE : <u>6344</u>
M'BOKA-LEFINI	POURCENTAGE DE
N'GOBILA	PARTICIPATION : <u>101 %</u>
MAFAMBA	
KIPOMKO	
SEDEK	
MOSSENGUI	NOMBRE DE TRYPANOSOMES : SB : 77 NT : 57
N'DINGA-NAWA	ICN : 2,11 %
EDOUANI	
MAIPLI	
KABA-ECOLE KABA-GOMBA	
MOLEBO	
KOUNDZOULOU-MIRANDA	

Tableau 3 : Total des prospections dans le district de Ngabé

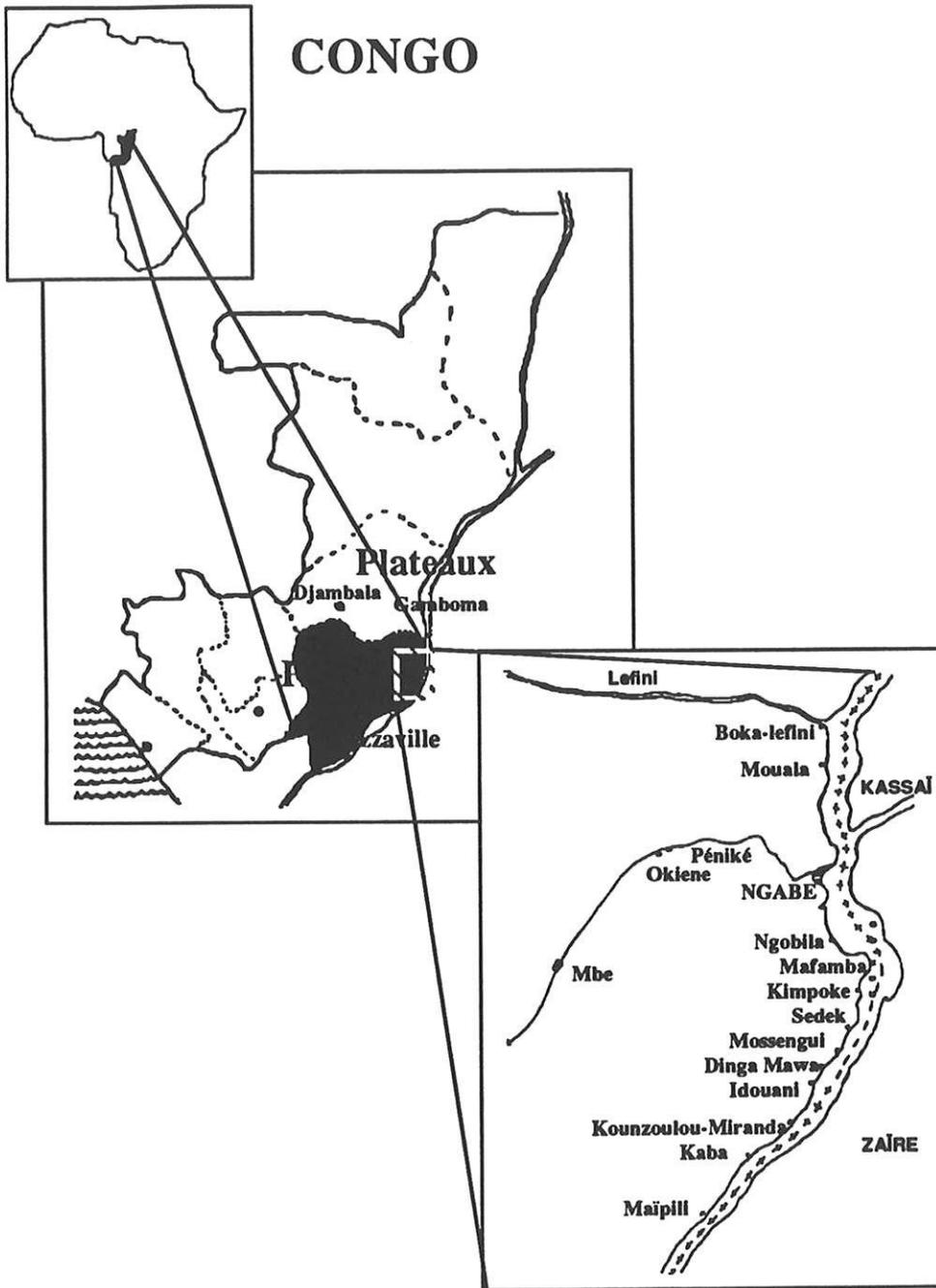


Fig. 4 : Prospection dans le Pool, district de Ngabé

DISTRICT DE DJAMBALA ET DE GAMBOMA :	
LOCALITES DEPISTEES	
INONI-PLATEAUX	POPULATION RECENSÉE (1984) : <u>6216</u> POPULATION VISITEE : <u>4966</u> POURCENTAGE DE PARTICIPATION : <u>80 %</u> NOMBRE DE TRYPANOSOMES : SB : 70 NT : 87
INONI-FALAISE	
BOUAMBE-LEFINI	
ETSOUALI	
BOUEMBA	
DOLO	
BALEMON	
MONGOLO	
M'PALA-LEFINI	
BOWANDO	
LENIONGOLO	
LILANGA	
M'POUYA	

Tableau 4 : Total des prospections dans le district de Djambala et Gamboma

3 Déroulement de l'enquête

- Définition des cas

Au cours des prospections, seul les sujets reconnus comme porteurs de trypanosomes ont été considérés comme cas et ceci quel que soit le lieu de découverte : sang, ganglion ou LCR.

- Définition des témoins

Chaque cas a été apparié avec un témoin du même âge, village et sexe. Cette population peut servir de référence pour les tests biologiques effectués et peut permettre une étude appariée des signes mis en évidence.

- Description de la chaîne de dépistage (fig.5)

Au Congo la stratégie est la suivante : les sujets sont exclus de la chaîne après négativation d'un ensemble de tests immunologiques et parasitologiques.

- Le Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT), mis au point par l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers à partir de souches de *T. b. gambiense*, permet un diagnostic rapide sur le terrain (Magnus et al., 1978).

Il comporte 2 étapes, un test sur sang total, suivi d'un test sur sérum de confirmation en cas de positivité du premier.

- L'immunofluorescence indirecte (IFI), est réalisée sur des antigènes lyophilisés et standardisés fabriqués à Anvers, ou sur étalement de trypanosomes, entretenus sur rats.

Sur le terrain on réalise des confettis imbibés de sang séché, analysés ultérieurement dans le laboratoire central ; le délai entre sa lecture et le dépistage des sujets le maintient au rang de test de confirmation sans possibilité, le plus souvent, de reconvoquer les sujets en cas de discordance.

- La palpation ganglionnaire cervicale et l'examen parasitologique du suc recueilli par ponction permet de confirmer le diagnostic. Ce signe clinique est discriminant mais peu sensible (Jannin et al., 1993), le diagnostic microscopique nécessite un oeil entraîné et patient.

- La recherche du parasite dans le sang après concentration : Centrifugation en Tube Capillaire (CTC) et examen microscopique de l'interface élément figuré/plasma est facilement réalisable sur le terrain (Woo, 1970) ; en cas de négativité elle peut être complétée par la technique de filtration sur minicolonne échangeuse d'anions (MAECT) de réalisation longue et donc plus difficile à adapter aux conditions actuelles de dépistage sur le terrain au Congo (Lanham, 1972)

Au terme de ces examens, le sujet sera classé comme négatif, positif (nouveau trypanosomé, NT) ou suspect biologique (SB). Les NT et SB vont subir une ponction lombaire (P.L.) afin de déterminer par le nombre de cellules décomptées et la présence éventuelle de trypanosomes, le stade de la maladie : au-delà de 5 cellules/ μ l et/ou la présence du trypanosome, le sujet sera considéré en phase nerveuse (P2) sinon il est en première phase (P1).

Les patients sont ensuite convoqués pour traitement, soit au centre de santé sentinelle du PNLTHA, soit à Brazzaville.

- Les sujets P1 subissent une cure intramusculaire d'iséthionate de pentamidine, à raison d'une injection tous les 2 jours pendant 20 jours ; ce traitement est réalisable en ambulatoire.

- Les sujets P2 subissent 3 à 4 cures de 3 jours d'injection intraveineuse directe de mélarsoprol, entrecoupées d'une période de repos.

Depuis la mise sur le marché de l' α -difluorométhyl-ornithine (DFMO, Breton et al., 1990) seuls les malades résistant à l'Arsobal et entrant dans un protocole restreint d'étude, ont pu bénéficier de ce traitement efficace, moins toxique mais cependant de maniement difficile de part son mode d'administration (perfusions pendant 14 jours) et son coût prohibitif.

(Ngampo S.,1991). Un suivi post-thérapeutique est assuré pendant 2 ans avec contrôle par P.L au premier mois, au troisième puis tous les 6 mois ; ce contrôle est assuré dans les centres fixes de dépistage et lors des prospections sur présentation de la fiche thérapeutique rédigée lors du diagnostic .

- Situation et rôle de l'enquêteur dans la chaîne de dépistage (fig.5)

Tous les sujets trypanosomés confirmés parasitologiquement, subissent un interrogatoire avec si nécessaire la présence d'un interprète (en général le chef du village ou l'instituteur).Un examen clinique complet et une prise de sang sont effectuée pour chaque sujet, la même procédure est suivie pour les témoins qui à ce stade du dépistage ne sont pas prévenus de leur statut.

Pour chaque sujet prélevé est effectué un hémocrite sur microcentrifugeuse à hémocrite et un frottis sanguin coloré sur place, afin d'établir ultérieurement une formule sanguine.

Après décantation et centrifugation, les sérums et plasmas sont recueillis dans des tubes Nunc identifiés d'après les observations cliniques.

Les L.C.R. sont recueillis après l'examen parasitologique et le décompte cellulaire.

Entreposés transitoirement dans une glacière mis à disposition par le programme élargi de vaccination (P.E.V.) ils seront acheminés au prochain centre de vaccination dans les plus bref délais pour être récupérés en fin de tournée et transportés à Brazzaville vers un congélateur du P.E.V.

Le transfert ultérieur vers le CHU de Limoges s'est effectué directement sans intermédiaire en entreposant les prélèvements dans de la carboglace.

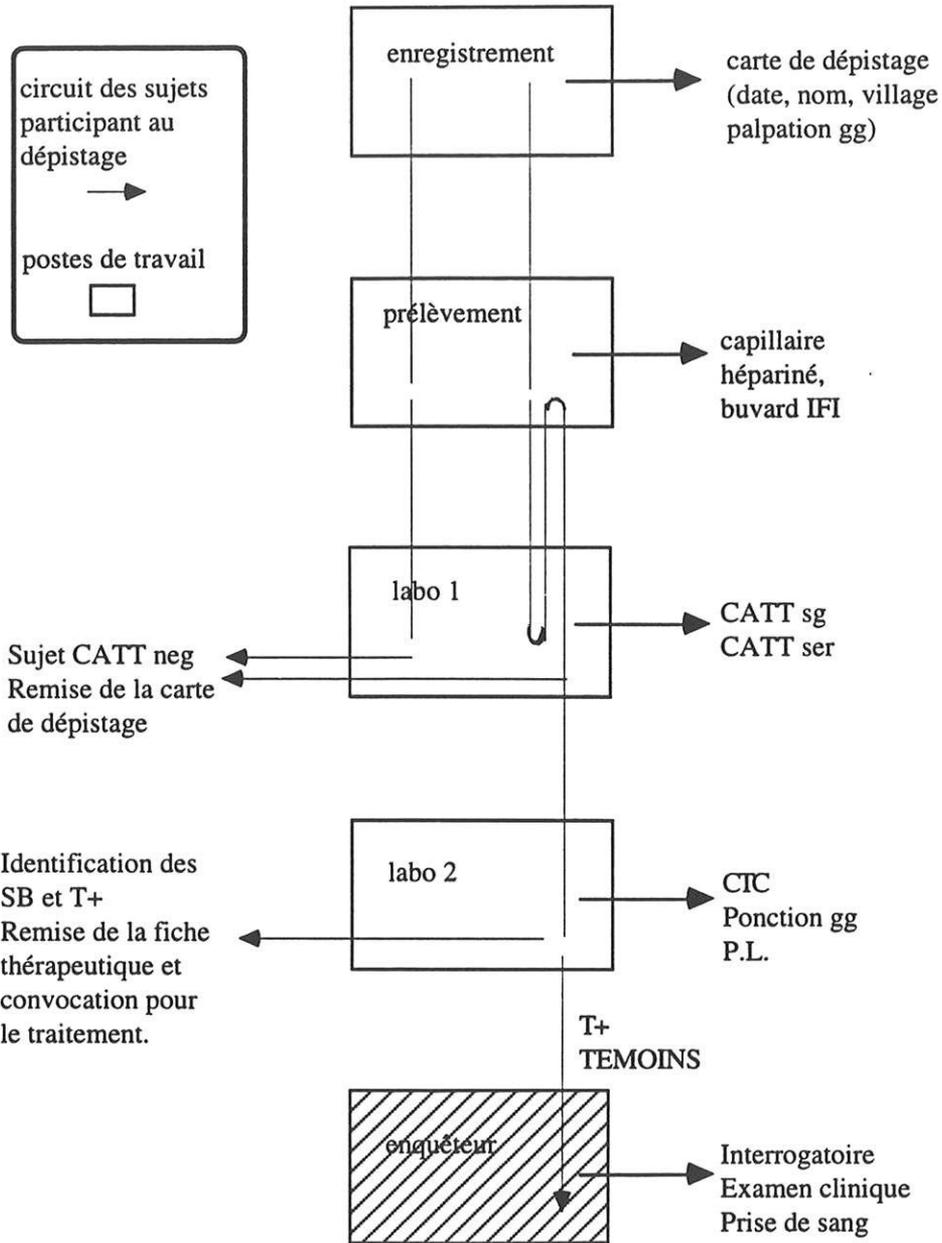


Fig. 5 : Organisation de la chaîne de dépistage

APPORT DES EXAMENS BIOCHIMIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE DE LA THA.

BISSER S. (1), BOUTEILLE B. (1, 2), SARDA J. (3), STANGHELLINI A. (3),
RICARD D. (4), JAUBERTEAU M.O. (5), MARCHAN F. (6),
DUMAS M. (1) & BRETON J.C. (1, 7)

(1) Institut d' Epidémiologie Neurologique et de Neurologie Tropicale, (2) Service de
Parasitologie, (5) Service d' Immunologie, (7) Service de Biochimie :

Faculté de médecine, 2 rue du Docteur Raymond Marcland, 87025 Limoges Cédex, France ;

(3) : Service des Grandes Endémies, Brazzaville, Congo ;

(4) : Medical research council, Entebbe, Ouganda ;

(6) : Faculté des Lettres et des Sciences Humaines, Limoges, France.

Résumé

Le stade d'évolution de la THA conditionne l'usage des traitements. La reconnaissance du passage du stade lymphaticosanguin au stade nerveux de la maladie demeure difficile en l'absence de signes cliniques et /ou biologiques suffisamment précis. L'objet de ce travail est la recherche d'un de ces signes. L'étude a été conduite au Congo et 70 sujets trypanosomés confirmés parasitologiquement ont été comparés à 70 témoins non trypanosomés. Le stade d'évolution de l'affection des patients a été déterminé selon le critère classique de la cytorachie du LCR, moins de 5 éléments pour le stade lymphaticosanguin (P1), plus de 5 éléments correspond au stade P2. Les paramètres sanguins étudiés ont été : glucose, urée, créatinine, sodium, potassium, chlore, calcium, phosphore, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe, cholestérol total, triglycérides, protides totaux, aspartate-amino-transférase (ASAT), alanine-amino-transférase (ALAT), lactico-déshydrogénase (LDH), créatinine-phosphokinase (CPK), phosphatase alcaline (PAL), gamma-glutamyl-transférase (gGT)

amylase, immunoglobulines G (Ig G), immunoglobulines M (Ig M), immunoglobulines A (Ig A), fraction C3c du complément, transferrine, orosomucoïde, haptoglobine et albumine.

Dans le LCR les paramètres étudiés ont été : les IgM, les IgG, la protéinorachie, la barrière hémoméningée et son degré d'altération.

La comparaison des sujets trypanosomés aux témoins, des sujets P1 aux sujets P2 puis des perturbations du LCR à la cytorachie montre l'intérêt du dosage des IgM du LCR associé à la détermination de la BHM pour déterminer les sujets en P2 mais retrouve une gradation des modifications biologiques plutôt qu'un seuil précis permettant d'affirmer le stade 2. Il paraît cependant opportun d'augmenter le seuil de la cytorachie à 20 cellules.

Mots-clés : Trypanosomose humaine africaine, Congo, biochimie, diagnostic de la phase nerveuse.

Introduction

La trypanosomose humaine africaine (THA) sévit dans une trentaine de pays d'Afrique subsaharienne. Il existe deux formes de la maladie selon le parasite responsable. Une forme aiguë due à *Trypanosoma brucei rhodesiense*, en Afrique de l'Est. Une forme chronique, insidieuse, due à *T. b. gambiense* en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale. Sans l'existence d'un dépistage actif systématique, cette dernière forme, la maladie du sommeil *sensu stricto*, peut être méconnue par le patient pendant des mois ou des années retardant le diagnostic à la phase tardive, neurologique (3), difficile à traiter (10, 14).

Dans les campagnes de dépistage de l'affection le diagnostic est facilité par l'utilisation d'un test simple d'agglutination sur sang total et sérum (Card Agglutination Trypanosomiasis Test ou CATT de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Belgique) (12). La positivité de ce test doit être confirmé par un examen parasitaire. Schématiquement, l'affection évolue en deux grandes périodes : le stade d'atteinte lymphatico-sanguine (P1) puis le stade P2 qui correspond à l'envahissement du système nerveux central (SNC) par le parasite. Mais aucun signe clinique n'est pathognomonique du passage du stade P1 à P2. Seules les formes neurologiques franches peuvent être décelées par l'examen clinique. Le diagnostic biologique

du stade de la maladie est de même difficile, bien qu'il soit d'une importance majeure car il conditionne l'emploi d'un médicament toxique, le mélarsoprol, seule thérapeutique active en cas d'atteinte neurologique (18). Actuellement, les critères utilisés pour l'identification du stade de la maladie sont la cytorachie et/ou la présence du trypanosome dans le liquide céphalorachidien (LCR). La seule présence de plus de 5 éléments/ μ l de LCR classe un patient en stade neurologique P2. Le dosage des Ig M dans le LCR est une méthode plus sensible, mais elle n'est pas appliquée en routine particulièrement au cours des campagnes de dépistage (9, 13).

L'objectif de ce travail est la recherche d'un test biologique simple permettant de différencier les stades. Pour ce faire, il est comparé d'une part le statut biochimique du patient atteint de THA avec celui du sujet témoin non trypanosomé issu de la même population, et d'autre part la cytorachie avec les autres altérations biochimiques du LCR dont le degré d'altération de la barrière hémoméningée (BHM) (26).

Méthodologie

Population d'étude

L'étude, de type cas témoin, s'est déroulée de janvier à juin 1993 au cours de prospections de dépistage de sujets atteints de THA au Congo dans le foyer de la Bouenza au sud du pays et dans les foyers du Pool et des Plateaux au nord, le long du fleuve Congo (9).

Les cas sont les sujets où le trypanosome a été mis en évidence dans le sang, le liquide de ponction ganglionnaire ou le liquide céphalorachidien (LCR). Les témoins correspondent à des sujets négatifs au test sérologique de dépistage (CATT).

Un CATT sur sang total a été effectué sur chaque personne présente lors du passage de l'équipe de prospection. Les sujets positifs au CATT sur sang total, prélevé à la pulpe du doigt, ont été confirmés par un CATT sur sérum et par la recherche de trypanosomes par ponction ganglionnaire ou dans le sang par la technique de Woo (30). Les sujets positifs au CATT sur sérum et/ou à l'examen parasitologique ont eu une ponction lombaire afin de déterminer le stade de l'affection. La cytorachie a été évaluée à la cellule de Nageotte et exprimée en nombre d'éléments par μ l de LCR. La recherche de trypanosomes dans le LCR

n'a pas été faite par la technique de double centrifugation, seuls les trypanosomes vus lors de la mesure de la cytorachie ont été décelés. La présence de trypanosomes dans le LCR et/ou une cytorachie supérieure à 5 éléments/ μ l classait le patient en stade P2 et entraînait un traitement par le mélarsoprol, sinon le patient était considéré en stade P1 et recevait de la pentamidine, thérapeutique ne franchissant pas la BHM. Seuls des cas présentant des trypanosomes dans le sang, les ganglions ou le LCR ont été inclus dans l'étude. Chaque cas ainsi défini a été apparié sur le sexe, l'âge et le village d'origine à un témoin. Chaque témoin a subi un prélèvement de sang au pli du coude mais pas de ponction lombaire pour des raisons éthiques évidentes.

Etude biochimique

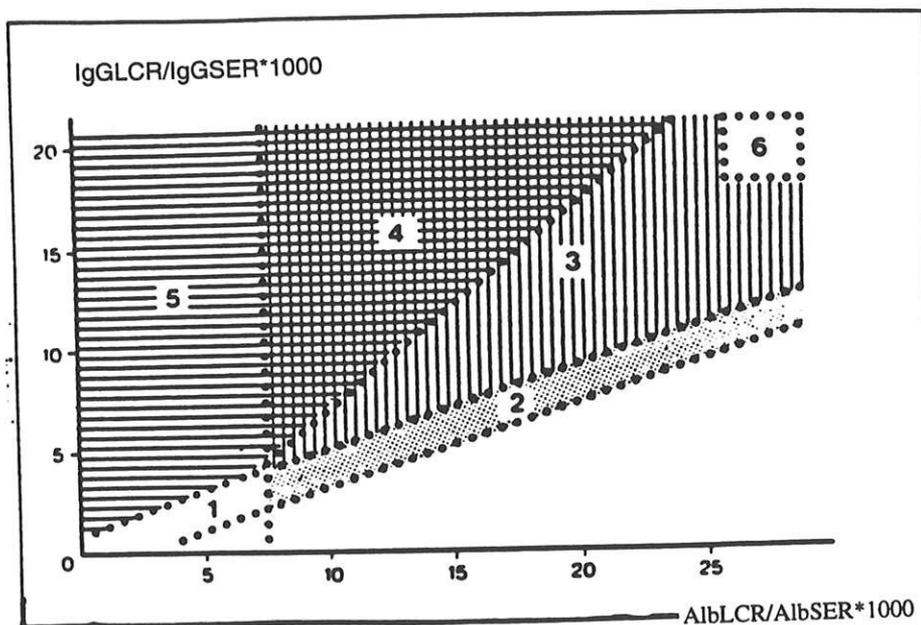
Les sérums et les LCR ont été aliquotés le jour même du prélèvement et maintenus congelés jusqu'à leur analyse effectuée dans les laboratoires à la Faculté de Médecine de Limoges.

Sérum (tableau I) - Quatorze paramètres biochimiques ont été dosés sur un autoanalyseur CHEM-1 Technicon : glucose, urée, créatinine, sodium, potassium, chlore, calcium, phosphore, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe, cholestérol total, triglycérides et protides totaux. Sur ce même appareil, 7 activités enzymatiques ont été mesurées : aspartate-amino-transférase (ASAT), alanine-amino-transférase (ALAT), lactico-déshydrogénase (LDH), créatine-phosphokinase (CPK), phosphatase alcaline (PAL), gamma-glutamyl-transférase (gGT) et amylase. Huit protéines sériques ont été quantifiées par néphélométrie sur un appareil BNA Behring (5) : immunoglobulines G (Ig G), immunoglobulines M (Ig M), immunoglobulines A (Ig A), fraction C3c du complément, transferrine, orosomucoïde, haptoglobine et albumine.

Liquide céphalorachidien (tableaux II et III) - La protéinorachie a été dosée par une technique colorimétrique au bleu de Coomassie adaptée aux faibles concentrations protéiques rachidiennes et commercialisée (Total Protein Test, Biorad, Californie). Le néphélomètre BNA Behring, a permis de doser les taux d'albumine, d'Ig G et d'Ig M.

Evaluation du fonctionnement de la barrière hémoméningée (BHM) (Fig.1) - Le degré d'altération de la barrière hémoméningée a été évalué par la comparaison des concentrations

en albumine et en Ig G présentent dans le sérum et le LCR d'un même malade (21, 22). La présence d'albumine dans le LCR résulte exclusivement de sa filtration à partir du plasma, elle entraîne le passage d'une certaine quantité d'Ig G, le rapport des concentrations en albumine du sérum et du LCR permet ainsi de déterminer la quantité d'Ig G entrant dans le LCR par filtration et celle qui est directement synthétisée dans le système nerveux central. Un programme informatique spécifique de ce calcul, associé au néphélomètre utilisé, permet d'effectuer automatiquement ce calcul et d'en obtenir une évaluation graphique, le diagramme de Reiber (Fig. 1). Il permet de déterminer six domaines. Chacun de ces domaines est en corrélation avec certains mécanismes pathogéniques ou tableau clinique correspondant aux diverses possibilités de synthèse intrathécale d' Ig G et d'altération de la BHM (4).



1. Absence d'anomalie décelable.
2. Légère altération de la barrière.
3. Importante altération de la barrière avec une synthèse intrathécale possible.
4. Importante altération de la barrière associée à une synthèse intrathécale d'IgG.
5. Synthèse intrathécale d'IgG sans altération de la barrière.
6. Altération massive de la barrière qui ne peut être définie avec certitude. (Ce domaine se situe hors des limites du diagramme).

Fig. 1 : diagramme de Reiber

Etude statistique

L'ensemble des données recueillies chez les patients a été comparé à celles obtenues chez les témoins, puis les cas en stade P1 ont été comparés à ceux en stade P2. Les résultats de caractère quantitatif ont été comparés deux à deux par le test non paramétrique de Mann et Whitney. Pour l'ensemble des résultats, le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$.

Résultats

Population étudiée

Sur 220 personnes examinées, 130 sujets avaient une THA confirmée à l'examen parasitologique ; 90 avaient un CATT sur sang total négatif. Soixante dix trypanosomés et 70 témoins pour lesquels aucune donnée clinique ou biologique n'est manquante ont été retenus dans le cadre de cette étude. Parmi les 70 trypanosomés 26 étaient en stade P1 et 44 en stade P2 selon le nombre de cellules dans le LCR.

Des signes neurologiques ont été notés chez 21 patients : 3 en stade P1 et 18 en stade P2 . Dix d'entre eux, tous en P2, présentaient un tableau associant une altération de l'état général, des troubles du comportement, des signes d'atteinte pyramidale ou extra-pyramidale et la présence de réflexes chéiro-oraux. Les 11 autres cas, dont les 3 en stade P1, présentaient des troubles du comportement associés ou non à un réflexe archaïque, sans aucun autre signe d'atteinte neurologique.

Etude du sérum

Les résultats des 29 analyses biochimiques effectuées dans le sérum des témoins et dans celui des sujets trypanosomés en fonction des stades P1 et P2 sont rapportés dans le tableau I.

	unités	témoins N = 70	malades N = 70	P 1 N = 26	P 2 N = 44
Glucose	mmol/l	4,45	4,45	4,42	4,48
Uree	mmol/l	3,9*	3,3*	3	3,5
Creatinine	μmol/l	95*	92*	92,2	92,3
Sodium	mmol/l	140*	138*	138,5	138,3
Potassium	mmol/l	4,4	4,4	4,2	4,5
Chlore	mmol/l	98,9	98,1	98,5	97,8
Calcium	mmol/l	2,2	2,2	2,25*	2,18*
Phosphore	mmol/l	1,2	1,2	1,26	1,24
Ac. urique	μmol/l	290*	318*	333	304
Bilirubine totale	μmol/l	10*	8,8*	9,65	10,15
Bilirubine directe	μmol/l	1,4*	2,2*	2,1	2,3
ASAT	UI/l	35	35,6	33,3	36,9
ALAT	UI/l	15,4	14,7	13,2	15,6
LDH	UI/l	511	481	526	451
CPK	UI/l	145*	110*	128	102
PAL	UI/l	118*	107*	127*	92*
gGT	UI/l	27*	18*	19,6	18
Amylase	UI/l	118*	93*	91	95
Cholestérol total	mmol/l	3,5*	2,6*	2,8	2,5
Triglycérides	mmol/l	0,95*	1,1*	1,13	1,09
Protides totaux	g/l	81,5*	90,4*	87,7	92
Albumine	g/l	41*	34,5*	35,6	33,9
Ig G	g/l	27*	37,5*	33,7*	40*
Ig A	g/l	2,3*	3,2*	3	3,3
Ig M	g/l	3*	15,7*	14,24	16,42
Transferrine	g/l	3*	2,8*	2,9	2,7
C3 c	g/l	0,84*	0,7*	0,74	0,68
Haptoglobine	g/l	1	1,3	1,20	1,36
Orosomucoide	g/l	0,96*	1*	1,19	1,08

N : nombre total de cas analysés.

* : résultats statistiquement significatifs deux par deux (malades et témoins, P1 et P2) avec un degré de signification $p < 0,05$

Tableau I : Résultats des données biochimiques chez l'ensemble des témoins, des cas, puis chez les cas en fonction du stade P1 ou P2 de THA.

Etude du LCR

Les résultats concernant les modifications du LCR et de la barrière hémoméningée sont rapportés dans les tableaux II et III.

N°	Signes neuro présent =1	éléments /ml	IGM/LCR (mg/l)	IGG/LCR (mg/l)	Protéines (mg/l)	BHM (1,3,4,5) **
87	1	3	12	19,5	107	1
73	1	1	3,9	38	228	1
89	1	5	< 2,4	33,2	130	1
5	0	2	31,3	52,2	230	1
105	0	3	4,8	77,4	529	1
69	0	3	16	92,6	367	1
14	0	4	10,4	77,4	367	1
70	0	5	10,2	48,3	215	1
86	0	5	7,9	95,6	399	1
82	0	2	5,2	51,5	240	1
2	0	2	4,7	34,3	262	1
3	0	2	3,9	43,4	436	1
10	0	2	3,6	34,2	344	1
72	0	2	3,3	45,7	279	1
20	0	2	< 2,4	43,3	XX*	1
34	0	5	< 2,4	60,2	XX	1
17	0	4	< 2,4	41,3	XX	1
22	0	3	< 2,4	63,7	400	1
23	0	3	< 2,4	45,5	XX	1
57	0	3	< 2,4	31,8	179	1
12	0	1	< 2,4	36	XX	1
13	0	1	< 2,4	31,5	168	1
56	0	1	< 2,4	32,5	XX	1
62	0	1	< 2,4	21,3	149	1
83	0	1	< 2,4	34	225	1
90	0	1	< 2,4	23,9	183	1
Tot ID = 26	(3/26)		13/26			(0/26)
%	11,50%		50%			0
Moy		2,6	4,5	46,5	271	
(+/- ecartype)		(+/-1)	(+/-6,9)	(+/-20)	(+/-115)	
Normes			0-1	< 34 mg/l	< 450 mg/l	

* : XX = donnée manquante

**1,3,4,5 voir fig. 1

Tableau II : Modifications du LCR chez les 26 patients P1 (cytorachie < ou = 5 éléments)

N°	Signes neuro	T.	élément /ml	IGM (mg/l)	IGG (mg/l)	Protéines (mg/l)	BHM (1,3,4,5) (**)
	présent=1	(+=1)					
81	1	1	612	263	425	983	4
99	1	1	480	60	360	XX*	4
78	1	0	160	220,6	467	951	4
68	1	0	154	354,1	477	1191	4
64	1	0	49	32,1	464	XX	4
60	1	0	34	228,5	286	724	4
39	1	1	560	140,6	270	1193	3
61	1	0	84	140,4	281	674	3
33	1	1	348	132,8	227	661	5
80	1	1	85	125,4	371	XX	5
65	1	0	26	82,8	159	XX	5
43	1	1	41	34,1	85,6	241	1
42	1	0	18	2,4	238	492	3
59	1	0	45	45,2	111	522	1
58	1	0	21	12,5	88,2	322	1
88	1	0	8	7	45,5	172	1
97	1	0	173	6	88,3	XX	1
15	1	0	9	2,8	76,6	406	1
35	0	0	92	109,4	140	483	5
41	0	0	17	61,4	122	408	5
4	0	1	200	41,6	202	627	5
11	0	1	100	105,2	277	XX	5
96	0	0	40	13,4	316	XX	5
54	0	0	23	31,8	156	XX	5
38	0	1	40	27	144	XX	1
79	0	0	10	9	79,3	627	1
47	0	0	8	4,9	54,2	537	1
37	0	1	20	12,2	109	575	1
48	0	0	16	10,4	88	262	1
92	0	0	18	10,1	76,8	282	1
100	0	0	8	9,4	70,5	310	1
76	0	0	21	9,4	87,2	367	1
84	0	0	26	9,2	53,1	311	1
71	0	0	11	9,1	65,8	355	1
74	0	0	8	7,7	61,2	288	1
93	0	0	8	7,2	84,5	302	1
9	0	0	6	6,1	92,2	331	1
75	0	0	8	4,3	32	67	1
53	0	0	7	3,8	42,5	206	1
94	0	0	6	3,7	51,2	260	1
49	0	0	10	<2,4	34,9	172	1
55	0	0	14	<2,4	68,8	XX	1
85	0	0	6	<2,4	29,5	158	1
40	0	1	5	<2,4	44,1	288	1
Tot ID = 44	(18/44)	(11/44)		(40/44)			(9/44)
%	40,9%	25%		90,9%			20,50%
Moy			82,6	54,5	161,4	463	
(+/- écart type)			(+/-143)	(+/-80,4)	(+/-132)	(+/- 279)	

* : XX = donnée manquante

** : 1,3,4 et 5 (cf fig. 1)

Tableau III : Modifications du LCR chez les 44 patients P2 (cytorachie > à 5 éléments et/ou présence de trypanosomes).

Analyse des résultats

Sérum : Les protides totaux, les Ig G, les Ig M et l'albumine présentent chez les trypanosomés une différence significative par rapport aux témoins. Les Ig M sont environ 5 fois plus élevées chez les malades que chez les témoins. Le rapport moyen albumine / globulines est inversé : 1,27 chez les témoins et 0,61 chez les cas.

Les 25 autres paramètres mesurés montrent une différence significative entre témoins et cas pour 16 d'entre eux. Onze paramètres ont des taux plus bas chez les malades : urée, créatinine, sodium, bilirubine totale, CPK, PAL, GT, amylase, cholestérol total, transferrine et C3c. Cinq sont augmentés en cas de THA : acide urique, bilirubine directe, triglycérides, Ig A et orosomucoïde.

Seuls 2 de ces 25 paramètres montrent, à côté des Ig G, une différence significative entre les stades P1 et P2 : calcium et PAL qui ont des taux diminués en stade P2.

Les Ig G sont significativement plus élevées au cours du stade P2 contrairement aux IgM.

Le rapport albumine/globulines est de 0,70 en P1 et 0,57 en P2.

Etude du liquide céphorachidien (tableau IV)

- *Le trypanosome* a été mis en évidence chez 11 des 44 cas classés en stade P2, parmi ces 11 patients, 6 présentaient des signes neurologiques.

- *La cytorachie* des 44 cas P2 est comprise entre 5 éléments à 612 éléments/ μ l (moyenne = 82 ± 143). 18 des 44 sujets P2 ont des signes neurologiques; la cellularité de leur LCR varie entre 8 et 612 (moyenne = 161 ± 193). Celle des 26 cas sans signe neurologique est comprise entre 5 et 200 éléments/ μ l (moyenne = 28 ± 41).

- *La protéinorachie* a pu être déterminée chez 20 des 26 cas P1 (moyenne = $271,9 \pm 111,6$ mg/l) et chez 34 des 44 cas P2 (moyenne = $463,2 \pm 279$ mg/l) dont 13 cas neurologiques (moyenne = $656,3 \pm 328$ mg/l).

- *Les Ig M* sont présentes chez 13 des 26 cas P1 (2 avec signes neurologiques), et chez 40 des 44 cas P2, le seuil de détection étant fixé à 2,4 mg/l par la technique néphélométrique utilisée. Leur taux augmente avec la gravité de l'atteinte ; il est de $9 \pm 7,5$ mg/l pour les cas P1, de 60

$\pm 82,4$ mg/l pour les cas P2 et de $105 \pm 101,3$ mg/l pour les cas P2 avec signes neurologiques; la différence est très significative selon le stade de la maladie.

- Les Ig G augmentent dans le même sens que les Ig M : elles passent de $46,5 \pm 20$ mg/l en stade P1 à $251,1 \pm 246$ mg/l en stade P2 avec signes neurologiques.

- La barrière hémoméningée (tableau V)

L' analyse du LCR des 26 cas P1 a montré l'absence d'altération de la BHM et de synthèse intrathécale d'immunoglobulines.

L' analyse du LCR des 44 cas P2 a montré :

- une BHM altérée chez 9 d'entre eux avec des signes neurologiques.

- une absence d'altération de la BHM chez 35 sujets mais parmi ceux-ci 9 avaient des signes neurologiques.

Parmi ces 35 cas de stade P2 : - 9 présentaient une synthèse intrathécale d'immunoglobulines (cytorachie moyenne = 103 ± 102 éléments/ μ l) dont 3 avec des signes neurologiques

- 26 n'avaient aucune perturbation de la BHM (cytorachie moyenne = 21 ± 32 éléments/ μ l) dont 6 avec des signes neurologiques.

Parmi les 44 cas de stade P2, un trypanosome a été découvert 11 fois dans le LCR : 3 fois en cas de BHM altérée (cytorachie > 400 éléments/ μ l), 8 fois en cas de BHM non altérée (cytorachie de 5 à < 400 éléments/ μ l) dont 4 fois en cas de synthèse intrathécale (cytorachie > 85 et < 400 éléments/ μ l) .

Un sujet présente un trypanosome dans le LCR sans aucune anomalie cellulaire ou biochimique.

	Normale	P1 moyenne ± ecartype (extrêmes)	P2 moyenne ± ecart type (extrêmes)	P2 neuro- moyenne ± ecart type (extrêmes)	P2 neuro+ moyenne ± ecart type (extrêmes)
cytorachie (éléments/μl)	< ou = 5	2 ± 1 (1 - 5)	82 ± 143 (5 - 612)	28 ± 41 (5 - 200)	161 ± 193 (8 - 612)
protéïnorachie (mg/l)	< 450	271,9 ± 111,6 (107 - 529)	463 ± 279 (67 - 1193)	343,6 ± 148,5 (67 - 627)	656,3 ± 328 (172 - 1193)
Ig M (mg/l)	< 2,4	4,5 ± 6,9 (< 2,4 - 31,3)	54,5 ± 80,4 (< 2,4 - 354,1)	19,5 ± 28,8 (< 2,4 - 109,4)	105 ± 101,3 (2,4 - 354,1)
Ig G (mg/l)	< 45	(19,5 - 92,6)	161,4 ± 131,2 (29,5 - 477)	99,3 ± 70,3 (29,5 - 316)	251,1 ± 246 (45,5 - 477)

Tableau IV - Valeurs moyennes des altérations du LCR en fonction du stade de la maladie.

	total	Signes neuro. présents	Tryp. présent	Ig M présent	Ig M > 100 mg/l	cytorachie/ μ l	
						moyenne \pm ecart-type	extrêmes
1) BHM - P2 altérée (zones 3, 4 de Reiber)	9	9	3 (*)	9	6	239 \pm 227	18 - 612
non altérée (zones 1, 5 de Reiber)	35	9	8	31	4	42 \pm 68	5 - 348
- avec synthèse Ig (zone 5 de Reiber)	9	3	4 (**)	9	4	163 \pm 102	17 - 348
- sans synthèse Ig (zone 1 de Reiber)	26	6	4 (***)	22	0	21 \pm 32	5 - 173
total P2	44	18	11	40	10	82 \pm 143	5 - 612
2) BHM - P1 (zone 1 de Reiber)	26	3	0	13	0	2 \pm 1	1 - 5
3) BHM - P1+P2 (zone 1 de Reiber)	52		4 (***)	53	0	11 \pm 24	1 - 173

Tableau V - Etude de la barrière hémoméningée en fonction du stade de la THA et des autres altérations du LCR.

(*) : ces 3 patients ont respectivement : 612 - 480 - 560 éléments/ μ l et 263 - 60 - 140,6 mg/l IgM.

(**) : ces 4 patients ont respectivement : 348 - 85 - 200 - 100 éléments/ μ l et 132,8 - 125,4 - 41,6 - 105,2 mg/l IgM

(***) : ces 4 patients ont respectivement : 41, 40, 20 et 5 éléments/ μ l et 34,1 - 27 - 12,2 - <2,4 mg/l IgM.

Discussion

Une atteinte du système nerveux central au cours de la THA peut être supposée devant la présence de l'un au moins des signes biologiques suivants :

- présence de trypanosomes dans le LCR(18) ,
- cytorachie > 5 éléments/ μ l de LCR et présence trypanosomes dans le système lymphatico-sanguin (sang, lymphe, moelle osseuse),
- protéinorachie > 450 mg/l et présence de trypanosomes dans le système lymphatico sanguin (17)
- présence d'Ig M dans le LCR à un taux supérieur à 100 mg/l de LCR ou représentant plus de 10 % de la protéinorachie (6, 8,19)
- présence d'anticorps spécifiques dans le LCR (11, 23, 25, 27, 28, 29),
- présence d'antigènes spécifiques du trypanosome dans le LCR (15).

Le diagnostic précis d'atteinte neurologique est important dans la THA car il conditionne l'attitude thérapeutique à adopter.

Dans cette étude 29 paramètres ont été étudiés à la recherche d'un facteur biochimique sérique discriminant le stade P1 du stade P2. Les perturbations protéiques, augmentation des protides totaux, des Ig M et des Ig G, et diminution de l'albumine, caractéristiques de la THA ont été retrouvées(13), elles ne permettent pas de différencier les stade P1 et P2 de la maladie sauf pour les IgG. Les modifications observées entre témoins et cas sont mineures et n'ont pas de grande signification. On retrouve la diminution du C3c au cours de l'évolution de la maladie (1), une anomalie du bilan lipidique avec hypocholestérolémie chez les P2 (7). Une étude antérieure chez l' animal avait montré des résultats biochimiques similaires (24) .

Par ailleurs, les critères classiques et simples d'atteinte neurologique, applicables facilement sur le terrain, cytorachie > 5 éléments/ μ l et/ou présence de trypanosomes dans le LCR ont été comparé à d'autres critères biochimiques : protéinorachie, Ig G, Ig M et étude de la fonctionnalité de la BHM (21, 22).

Les Ig M du LCR ont été dosés par une méthode néphélobimétrie dont le seuil de sensibilité se situe à 2,4 mg/l, valeur inférieure à celle détectables par les techniques d'immunodiffusion radiale (13) qui ont servi à déterminer les valeurs au delà desquelles un diagnostic de stade P2 était posé (Ig M > 10 % de la protéinorachie ou > 100 mg/l de LCR). C'est ainsi que dans cette étude 13 des 26 cas P1 ont des Ig M dans le LCR. Cependant 8 sur 18 cas P2 avec signes neurologiques ont des taux importants d'Ig M dans le LCR correspondant à l'une des deux définitions du stade 2 des auteurs cités plus haut. Le taux moyen des Ig M du LCR des 18 cas P2 avec signes neurologiques est $105 \pm 101,3$ mg/l. Aucune définition ne permet d'inclure toutes les modifications du LCR observées.

Il est intéressant de noter que cytorachie, protéinorachie, Ig G et Ig M évoluent dans le même sens que l'aggravation de la maladie et qu'il existe un écart important entre les valeurs de ces paramètres selon qu'en stade P2, le patient présente ou non des signes neurologiques (tableau IV). En particulier, la cytorachie moyenne passe de 28 ± 41 éléments/ μ l quand il n'y a pas d'atteinte clinique neurologique à 161 ± 193 éléments/ μ l quand les signes sont présents.

L'étude de la BHM semble très informative quant à la possibilité d'une atteinte du système nerveux central par le trypanosome (tableaux III et V). Douze des 18 cas P2 avec signes neurologiques ont une BHM altérée ou une synthèse intrathécale d'immunoglobulines. Les 9 cas P2 ayant une BHM altérée ont tous des signes neurologiques, une cytorachie moyenne élevée, 239 ± 227 éléments/ μ l, et un fort taux d'Ig M, $160,2 \pm 109,9$ mg/l. Mais, 26 cas P2 n'ont pas d'altération de la BHM, ni synthèse intrathécale d'immunoglobulines (cytorachie = 21 ± 32 éléments/ μ l, Ig M = $9,7 \pm 10,3$ mg/l) ; 4 d'entre eux ont cependant des trypanosomes dans le LCR, la cytorachie allant de 5 à 41 éléments et les IgM de < 2,4 à 34,1 mg/l.. Les 26 cas P1 ont tous une BHM non altérée et pas de synthèse intrathécale d'immunoglobulines. Stades P1 et P2 confondus, les 52 cas de THA qui ne présentent ni altération de la BHM, ni synthèse intrathécale ont une cytorachie moyenne de $11,9 \pm 24,7$ éléments/ μ l.

De la même façon que la cytorachie et les Ig M, l'altération de la BHM est corrélée avec le degré de sévérité de l'atteinte du système nerveux central.

On peut alors se poser trois types de questions :

- la première étant de savoir si la présence de trypanosomes dans le LCR, sans autre signe biologique (1 cas dans cette étude, cf. cas n° 40 du tableau III), est pathognomonique d'une méningoencéphalite. Il est seulement connu que le LCR constitue un mauvais milieu de survie pour le trypanosome (20) et que la recherche de trypanosomes dans le LCR est aléatoire, des cultures positives ont été décrites à partir de LCR initialement négatifs, même à la double centrifugation (18).
- la deuxième correspond à la vraisemblable augmentation de l'intensité des perturbations biologiques en fonction de la gravité de la maladie (16). En moyenne, dans cette étude, les paramètres étudiés dans le LCR (cytorachie, protéinorachie, Ig M, Ig G et BHM) voient leurs anomalies s'intensifier de façon parallèle avec les signes cliniques. Mais, d'une part dans les différentes sous-populations de l'étude (tableaux IV et V), les valeurs de ces paramètres sont très étalées, montrant bien la difficulté de cette approche, et d'autre part la cytorachie et les Ig M peuvent rester augmentées après traitement (16, 25).
- la troisième, pragmatique, est celle du seuil de la cytorachie à partir duquel le clinicien, dans l'incertitude de la présence du trypanosome dans le LCR et en sachant que le risque thérapeutique est moins grand, peut classer un patient atteint de THA en stade P1 avec le minimum de risque d'erreur. Les résultats de cette étude montrent que, en dehors de la mise en évidence du trypanosome dans le LCR, ce seuil pourrait se situer entre 15 et 20 éléments/ μ l (entre 11 et 21 éléments/ μ l d'après le tableau V). En tenant compte de cette hypothèse, 17 cas auraient été classés à tort en stade P2 dans cette étude (cytorachie moyenne = 9 ± 3 éléments/ μ l, extrêmes : 6-18), ils auraient pu bénéficier d'une thérapeutique moins toxique que le mélarsoprol (2).

L'établissement d'un seuil de la cytorachie entre 15 et 20 éléments/ μ l demande à être validé par des études épidémiologiques extensives incluant de nombreux patients dans différentes régions d'endémie de THA avec le traitement, le suivi après traitement et les circonstances des rechutes éventuelles.

Conclusion

L'étude des modifications biochimiques du serum et du LCR de 70 sujets trypanosomés retrouvent l'intérêt du dosage des IgM du LCR sans trouver de réponse concernant le seuil à partir duquel il faut les considérer comme significatif du stade 2. L'altération de la BHM est corrélée avec la gravité de l'atteinte et pourrait être un bon marqueur du stade P2 de l'affection. L'ensemble des résultats biochimiques tend à permettre d'accepter une cytorachie à 20 cellules comme suffisante pour caractériser les sujets P2, mais ce résultat reste à être confirmé.

Références bibliographiques

- 1- BOUTEILLE (B.), DARDE (M.L.), MONTEIL (J.) et PESTRE-ALEXANDRE - Le complément : témoin d'infestation par *Trypanosoma brucei brucei* chez le mouton, modèle expérimental ; son évolution après traitement. Bull. Soc.Path.Ex., 1988, **81**, 522-529.

- 2- DOUA (F.) et BOA YAPO (F.)-Actualités thérapeutiques de la trypanosomiase. Bull. Soc. Path. Ex., 1994, **87**, 337-340.

- 3- DUMAS (M.) and BOA (Y.) - Human African Trypanosomiasis. In Handbook of Clinical Neurology, revised Series, 1988, **8**, 339 -344. VINKEN P.J., BRUYN G.W. & KLAWANS H.L. ed. Elsevier Sciences Publishers. Amsterdam.

- 4- FATEH-MOGHADAM (A.) - Logiciel d'aide à l'interprétation du bilan protéique du LCR. Version 1.3, 1990, Copyright Behringwerke AG.

- 5- GIRAUDET (P.), COUDON (B.), POSTEL (P.) et ALEXANDRE (J.A.) - Profils protéiques. Behring diagnostic 1992.

- 6- GREENWOOD (B.M.) and WHITTLE (H.C.) -Cerebrospinal fluid IgM in patients with sleeping sickness. The Lancet, 1973, **2**, 525-527.

- 7 - HUEL (G.), LEMESRE (J.L.), GRARD (G.), NOIREAU (F.), BOUTIGNON (F.), DIEU (M.C.), JANNIN (J.) and DEGOND (P.) - Serum lipid and lipoprotein abnormalities in H.A.T. Bull. Soc. Path. Ex., 1990, **84**, 792-799.

- 8 - ITAZI (O.K.)-Radial immunodiffusion as a diagnostic test for african human trypanosomiasis in cases with neurological involvement. International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control ,1981, XVIIth Meeting, publication N° 112.

9 - JANNIN (J.), PENCHENIER (L.), EOZENOU, VENTROU (P.), MIALEBAMA (J.), LOUYA (F.), BOBENDA (T.), SAMBA (F.) et CODDY ZITSMALÉ .- Recrudescence actuelle de la THA dans le foyer de la Sangha (Cuvette) au Congo. Bull. Soc.Path.Ex.,1992, **85**, 31-38.

10 - JOYEUX (CH.) et SICE (A.) - Précis de médecine des pays chauds, Masson et cie ed., 4è ed., 1950, 1070p., p 855.

11 - LEMESRE (J.L.), NOIREAU (F.), MAKOUNDOU (M.L.), LOUEMBE (M.T.) et FREZIL (J.L.).Apport des techniques sérologiques dans l'analyse du liquide céphalo-rachidien de patients congolais atteints de la maladie du sommeil. Bull.Soc.Path.Ex.,1988, **81**, 506-510.

12 - MAGNUS (E.), VERVOORT (T.) and VAN MEIRVENNE (N.)- A card agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for serological diagnosis of *T. b. gambiense*. Ann. Soc. belge Méd. Trop., 1978, **58**, 169-176.

13 - MATTERN (P.) - Etat actuel et résultats des techniques immunologiques utilisées à l'Institut Pasteur de Dakar pour le diagnostic et l'étude de la trypanosomiase humaine. Bull. W.H.O., 1968, **38**, 1- 8.

14 - MULLIGAN (M.N.)- The African Trypanosomiasis, London 1970, G. Allen and Unwin ed.

15- NANTULYA (V.M.), DOUA (F.) and MOLISHO (S.)-Diagnosis of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness using an antigen detection enzyme-linked immunosorbent assay.Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg.,1992, **86**,42-45.

- 16 - NEUJEAN (G.). - Contribution à l'étude des liquides rachidiens et céphaliques dans la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense*. Ann. Soc. belge Méd.trop., 1950, **30**, 1125-1387.
- 17 - OMS - Manuel de lutte contre la Trypanosomiase, 1983, p142.
- 18 - OMS - Trypanosomiase africaine. Progrès de la recherche 1989-90. Xè rapport du programme.OMS Genève, 1991.
- 19 - OUDART (J. L.), DIALLO (B.) et ROLEZ (S.) - Contribution du laboratoire au diagnostic de la trypanosomiasis humaine africaine. Médecine d'Afrique Noire, 1976, **23**, 31-37.
- 20- PENTREATH (V.W.) - Trypanosomiasis and the nervous system.Pathology and immunology. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1995, **89**, 9-15.
- 21 - REIBER (H.) - The discrimination between different Blood/CSF Barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. J. Neurol., 1980, **224**, 89-99
- 22- REIBER (H.) and FELGENHAUER (K.) - Immunoglobulin Cerebrospinal Fluid (CSF/Serum) Quotients as a function of Blood CSF Barrier permeability. Quantitation of Local Immunoglobulin Synthesis in the Central Nervous System. Metabolism and development of the Nervous System.1987 Wiley J., Chichester, U.K.
- 23 - ROFFI(J.), DEDET (J.P.) et GARRE (M.T.) - Diagnostic immunoenzymatique de la Trypanosomiase en phase nerveuse par mise en évidence d'anticorps spécifiques dans le liquide céphalorachidien. Méd. et Mal. Inf., 1979, **9**, 306-312.

24 - SEED (J.R.), SECHELSKI (J.) and HALL (J.E.) - Further biochemical characterization of chronic *Trypanosoma brucei gambiense* - *Microtus montanus* infection. Am.J.Trop.Med.Hyg., 1987, **37**, 314-9

25 - SMITH (D.H.), BAILEY (J.W.) and WELDE (B.T.) - Immunodiagnostic tests on cerebrospinal fluid in the diagnosis of meningoencephalitic *Trypanosoma brucei rhodesiense* infection. Annals of tropical Medicine and Parasitology, 1989, **83**, suppl.1, 91-97.

26 - WAITUMBI (J.N.), SAYER (P.D.) and GOULD (S.S.) - Evidence of blood cerebrospinal fluid barrier impairment in *T.b. rhodesiense* infection in vervet Monkey. Bull. Soc. Path. Ex., 1988, **81**, 502-505.

27 - WERY (M.), WERY-PASKOFF (S.) and VAN WETTERE (P.) - The diagnosis of human African trypanosomiasis (*T.gambiense*) by the use of the fluorescent antibody test (I). Ann.Soc.belge Méd.trop., 1970, **50**, 613- 634.

28 - WERY (M.), WERY-PASKOFF (S.), VAN WETTERE (P.), VAN MEIRVENNE (N.) and MESATEWA (M.) - The diagnosis of human African trypanosomiasis (*T. gambiense*) by the use of the fluorescent antibody test (II). Ann.Soc.belge Méd.trop., 1970, **50**, 711- 730.

29 - WHITTLE (H.C.), GREENWOOD (M.), BIDWELL (D.E.), BARTLETT and VOLLER (A.) - IgM and antibody measurement in the diagnosis and management of gambian trypanosomiasis. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1977, **26**, 1129-1134

30 - WOO (P.T.K.) - The haematocrite centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Tropica, 1970, **27**, 384-386.

QUELLE PLACE POUR LES ANTICORPS ANTI-GALACTOCÉRÉBROSIDE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE DE LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE ?

BISSER S. (1), AYED Z. (2), BOUTEILLE B. (1, 3), STANGHELLINI A.(5), BRETON
J.C.(1, 4), DUMAS M. (1) et JAUBERTEAU M.O. (2)

(1) Institut d'Epidémiologie Neurologique et de Neurologie Tropicale,

(2) Service d' Immunologie, (3) Service de Parasitologie, (4) Service de Biochimie :
Faculté de médecine, 2 rue du Docteur Raymond Marcland, 87025 Limoges Cédex, France.

(5) Service des Grandes Endémies, Brazzaville, Congo.

Résumé

Le diagnostic de la trypanosomose humaine africaine est problématique notamment pour évaluer le début de l' invasion du système nerveux central. Ce diagnostic est primordial puisqu'il conditionne l'attitude thérapeutique. A côté de la cytorachie et des immunoglobulines du LCR, on cherche actuellement à définir des marqueurs plus spécifiques tels les anticorps antigalactocérébrosides dirigés contre la myéline, un constituant majeur du système nerveux central. Une étude effectuée au Congo lors de campagne de dépistage et comprenant 105 sujets atteints de maladie du sommeil, détermine le rôle et les corrélations cliniques liés à la présence de ces anticorps dans le sérum et le LCR. Les anticorps antigalactocérébrosides pourraient représenter un marqueur de polarisation nerveuse.

Mots-clés : Trypanosomose humaine africaine, Congo, clinique, diagnostic de la phase nerveuse, anticorps antigalactocérébroside.

Introduction

La trypanosomose humaine africaine (THA) désigne une infection liée à un trypanosome du groupe *brucei*, transmis à l'homme par la piqûre d'une glossine ou mouche tsé-tsé. *T. b. gambiense* sévit en Afrique occidentale et centrale et détermine une forme chronique mortelle de la maladie, appelée maladie du sommeil; *T. b. rhodesiense* est localisé en Afrique orientale et méridionale où il provoque une maladie d'évolution plus aiguë. Classiquement, la maladie du sommeil évolue progressivement pendant des années vers une atteinte neurologique majeure alors que la forme aiguë Est africaine est fatale en quelques mois par atteinte cardiaque le plus souvent. (5). En fait, cette distinction est actuellement controversée devant la multiplicité des tableaux cliniques observés de part et d'autre du continent africain. Les manifestations neurologiques évoluent de la réaction méningée à la détérioration mentale puis à l'encéphalite où les lésions deviennent irréversibles, même avec un traitement bien conduit.

Le mécanisme de l'atteinte neurologique n'est pas clairement compris. Une des voies de recherche concerne les modifications immunologiques entraînées par la présence du parasite dans l'organisme. Le rôle des complexes immuns associés au C3c a été étudié (13) mais semble peu vraisemblable devant l'absence d'infiltration par des polynucléaires aux sites des lésions des tissus nerveux observés (6). La présence d'autoanticorps dirigés contre de nombreux antigènes est souvent rapportée : érythrocytes (9), muscles lisses (15), tissus (foie, coeur, rein, thymus) (10), acides nucléiques (7). Des autoanticorps dirigés contre des constituants majeurs du système nerveux central (SNC), notamment contre des antigènes glycolipidiques ou glycoprotéiques de la myéline ont été décrits. Les anticorps anti-galactocérobrosides (anti - GalC) sont dirigés contre le constituant glycolipidique majeur de la myéline. Ils ont été détectés dans le sérum de moutons infectés par *T.b.brucei* utilisés comme modèle expérimental (8), et de malades Ivoiriens atteints de THA(1). Leur présence est également signalée dans le sérum de sujets atteints de maladie de Chagas ou de

leishmaniose (3). Des anticorps dirigés contre la protéine basique de la myéline ont été détectés chez des souris infectés par *T.b.brucei*, en association à des anticorps anti-GalC et anti-gangliosides (2) ; d'autres anticorps ont été mis en évidence contre des protéines non caractérisées isolées de malades infectés par *T.b. gambiense* (7).

Ces autoanticorps dirigés contre des constituants du SNC pourraient contribuer directement au mécanisme pathogénique de l'atteinte nerveuse et, en pratique, leur recherche pourrait constituer un test biologique pour le diagnostic de la phase nerveuse de la THA.

Une étude réalisée au Congo a permis d'établir sur un échantillon de 105 malades et un groupe de 59 sujets témoins, le rôle possible et la place des anticorps anti-GalC dans le diagnostic de cette maladie.

Malades et méthode

Population d'étude

L'étude s'est déroulée au Congo en 1993 lors de prospections de dépistage dans 3 des principaux foyers endémiques de THA : Pool, Bouenza, Plateaux.

Le dépistage des malades est basé sur l'utilisation du Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) sur sang total (11). Sur le terrain les malades sont reconnus après confirmation sur sérum de la positivité du CATT et examen parasitologique à la recherche de trypanosomes dans le sang après centrifugation en tube capillaire (16) , dans le suc ganglionnaire après ponction-aspiration d'une adénopathie ou dans le liquide céphalorachidien (LCR).

Le stade de la maladie est déterminé en fonction de la cytorachie. Tout sujet présentant une cytorachie supérieure à 5 éléments par μl et /ou des trypanosomes dans le LCR est considéré comme étant en deuxième stade (P2) et est traité par le mélarsoprol. De 0 à 5 éléments/ μl et sans trypanosomes dans le LCR le patient est en première période (P1) et bénéficie d'un traitement par la pentamidine.

Cent cinq malades dont 52 en P2 et 53 en P1, ainsi que 59 sujets témoins ont été inclus dans cette étude. La population témoin est choisie lors des prospections dans les mêmes villages avec un test CATT sur sang total négatif.

Chaque malade et chaque témoin a été soumis à un interrogatoire à l'aide d'un questionnaire préétabli et un examen clinique complet afin de déterminer le stade de l'affection. L'examen clinique s'est particulièrement orienté vers la recherche de signes neurologiques : troubles du comportement (manifestations psychiatriques de la maladie) et signes objectifs d'atteinte du système nerveux.

Un prélèvement sanguin au pli du coude a été réalisé chez chaque malade et chaque témoin et une ponction lombaire seulement chez les sujets malades pour des raisons éthiques évidentes. Les liquides biologiques ont été centrifugés, aliquotés sur le terrain, puis stockés à - 70°C jusqu'à leur analyse.

Tests effectués

Dosages des protéines:

Un bilan protéique sérique a été réalisé sur néphélomètre BNA (Behring,). Il comporte 9 paramètres : protidémie, immunoglobulines (Ig)G, IgA, IgM , albumine, fraction C3c du complément, transferrine, orosomucoïde, haptoglobine.

Dans le LCR, la même technique de dosage néphélométrique a permis d'étudier IgG, IgM et albumine et d'apprécier, en couplant avec les données sanguines, l'altération de la barrière hémoméningée (BHM). Le rapport entre d'une part l'albumine sérique et du LCR et d'autre part les IgG du sérum et du LCR permet d'évaluer la synthèse locale d'immunoglobulines (15).

La protéinorachie a été dosée par une technique au bleu de Coomassie (Total protein test kit, Bio-Rad, Californie).

Dosages des anti - GalC du sérum et du LCR:

La méthode utilisée est une technique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) utilisant des plaques de microtitration (Immunosorb, Nunc, Roksilde, Danemark)

sensibilisées par du GalC purifié de cerveau de bovin (Sigma, St Louis, Mo). Chaque sérum a été étudié dans 3 puits sensibilisés, et 3 puits sans antigène afin de déterminer les fixations non spécifiques des immunoglobulines. Le GalC est dissout dans du méthanol au moment de l'utilisation. Les plaques de microtitration sont sensibilisées par 1 µg de GalC par puits et séchées à l'étuve à 37°C. La saturation des sites non spécifiques se fait avec de la sérum-albumine bovine (BSA) diluée à 5% dans du PBS pH 7, 2. Les plaques sont incubées à 37°C pendant 1 heure puis lavées 6 fois avec une solution de PBS -Tween 20 0, 05% (v/v). Le sérum dilué au 1/100 dans du PBS-BSA 5% (p/v) est ajouté dans les puits à raison de 100 µl/puits. Les plaques sont incubées 12 heures à 4°C. Après lavage, la révélation est obtenue par des antisérums polyvalents anti - Ig humaines couplés à la biotine et dilués au 1/1000 dans le PBS-BSA 5% après incubation d'une heure à 37°C. Après un second lavage, le complexe streptavidine-peroxydase (Amersham) dilué au 1/1000 dans du PBS complète la réaction qui est révélée après 30 mn par un substrat à base d'orthophénylènediamine et d'H₂O₂ en tampon citrate. La réaction colorimétrique est lue à 492 nm et exprimée en densité optique (D.O.) corrigée, définie par la moyenne des D.O. des puits sensibilisés à laquelle on retranche la moyenne des D.O. correspondants aux fixations non spécifiques.

Pour l'analyse des LCR, il a été nécessaire de déterminer la dilution optimale permettant de mettre en évidence les anticorps anti-GalC, ce dosage n'ayant, à notre connaissance, jamais été décrit au préalable dans ce liquide biologique. Après des essais portant sur une dizaine de LCR à des dilutions sériées du 1/2 au 1/25, la dilution 1/2 a été retenue car à une dilution supérieure aucune réactivité n'était décelable.

Analyse statistique des données

L'ensemble des données a été saisi sur Epi Info v 5.01b. L'analyse a été faite par un test non paramétrique, U de Mann Whitney pour la comparaison de données quantitatives à des données qualitatives et corrélations des rangs de Spearman pour la comparaison de données quantitatives.

Résultats

1 - Clinique

Le questionnaire utilisé a permis de synthétiser l'ensemble des données et de choisir les plus pertinentes. Certains signes classiquement décrits sont retrouvés : adénopathies cervicales, splénomégalie, amaigrissement, oedème des téguments, pâleur des conjonctives. L'examen clinique s'est orienté vers un examen neurologique qui a permis de définir 5 groupes de malades:

- **groupe 1**, absence de signe neurologique, représenté par 67 patients sur 105 (63,8%), 41 en stade P1 et 26 en P2.

- **groupe 2**, présence de troubles du comportement, avec 13 patients sur 105 (12,4%), 8 en P1 et 5 en P2.

- **groupe 3**, présence de réflexes archaïques qui constituaient l'unique anomalie comprenant 10 patients sur 105 (9,5%), 4 en P1 et 6 en P2.

- **groupe 4**, rassemblant les patients présentant à la fois des troubles du comportement et des réflexes archaïques, 4 patients sur 105 (3,8%), 2 en P1 et 2 en P2.

- **groupe 5**, représentant les sujets dont le tableau neurologique est évocateur de THA (5) : céphalées, hyperesthésies profondes, myalgies, syndrome pyramidal diffus, akinésie avec hypertonie de type extrapyramidal, tremblements de repos et d'attitude avec des mouvements choréo athétosiques, troubles du sommeil ; ces signes sont présents de façon plus ou moins concomitante chez 11 patients sur 105 (10,4%) Un prurit invalidant est souvent associé à ces signes. Tous ces sujets sont en P2.

2 - Profils protidiques sériques (Tableau I) :

Les résultats sont représentés en fonction des témoins, malades et chez les malades en fonction du stade P1 ou P2 de leur atteinte.

	témoins N = 59 moyenne (+/- écart type)	malades N= 105 moyenne (+/- écart type)	P 1 N= 53 (+/- écart type)	P 2 N= 52 moyenne (+/- écart type)
Protides totaux (g/l)	82,4 (+/- 6,8)	90,3 (+/- 8,1)	88,6 (+/- 8,1)	92 (+/- 7,7)
Albumine (g/l)	40,8 (+/- 4,7)	35,2 (+/- 4,8)	36,5 (+/- 4,47)	33,9 (+/- 4,8)
Ig G (g/l)	28 (+/-11)	38 (+/-8,4)	35,7 (+/- 8,3)	39,6 (+/- 8,02)
Ig A (g/l)	2,2 (+/- 1,1)	3 (+/-1,3)	2,8 (+/- 1,3)	3,3 (+/- 1,2)
Ig M (g/l)	2,9 (+/- 1,7)	16,6 (+/-9)	14,7 (+/-7,2)	18,4 (+/- 10)
Transferrine (g/l)	3,02 (+/- 0,5)	2,8 (+/- 0,5)	2,85 (+/- 0,5)	2,8 (+/- 0,5)
C3 c (g/l)	0,8 (+/- 0,2)	0,7 (+/- 0,2)	0,7 (+/- 0,1)	0,6 (+/- 0,1)
Haptoglobine (g/l)	0,9 (+/- 0,3)	1,06 (+/- 0,3)	0,98 (+/-0,7)	1,13 (+/- 0,7)
Orosomucoïde (g/l)	0,9 (+/- 0,3)	1 (+/- 0,3)	1,03 (+/- 0,3)	1,06 (+/- 0,3)

Tableau I : Résultat du dosage des marqueurs de l'inflammation chez les témoins, l'ensemble des malades et chez les malades selon le stade de l'affection (P1, P2).

P1 : cytorachie < ou égale à 5 éléments/ μ l

P2 : cytorachie > à 5 éléments/ μ l

3 - Profils protidiques du LCR (Tableau II)

L'étude du LCR a concerné les marqueurs distinctifs de l'atteinte neurologique ; la population des patients est classée en fonction de la cytorachie (53 P1 et 52 P2).

LCR	Protéïnorachie mg/l	Albuminorachie mg/l	Ig G mg/l	Ig M mg/l	Cytorachie cellules/ μ l	BHM altérée Nb patients
P1 (53)						
Moyenne +/- Ecartype	296,6 (+/-140)	117,7 (+/-57)	53 (+/-31)	8,4 (+/24,7)	2 (+/- 1,3)	1
P2 (52)						
Moyenne +/- Ecartype	496 (+/- 363)	183 (+/- 118)	138 (+/116)	65,3 (+/106)	83 (+/- 140)	10

Tableau II : Marqueurs du LCR subdivisé en fonction des stades P1 et P2

P1 : cytorachie < ou égale à 5 éléments/ μ l

P2 : cytorachie > à 5 éléments/ μ l

4 Anticorps anti-galactocérébrosides dans le sérum et dans le LCR (tableau III)

Pour les sérums les résultats sont exprimés en nombre de positifs par rapport au seuil établi en fonction des témoins. (seuil = 0, 9414 en D.O. corrigée)

Pour les LCR, il n'y a pas de seuil, tous les LCR ayant montré une réactivité sont considérés comme positifs.

	Témoins N = 59	Malades N = 105	P1 N = 53	P2 N = 52
Nombre de sérums positifs	3	29	12	17
Nb LCR positif	Non fait	22	2	20

Tableau III : Résultats du dosage des anticorps anti-GalC

4 1 Anticorps anti-GalC du sérum

Les anti-GalC du sérum sont significativement augmentés par rapport aux témoins ($p = 0,0002$) en comparant les résultats des malades aux témoins à partir des D.O. obtenues.

29 sujets sont positifs pour l'anticorps anti-GalC dans le sérum soit 27, 6% de la population des malades.

4 2 Anticorps anti-GalC du LCR

Ils sont présents chez 22 sujets dont 20 P2 et 2 P1.

Discussion

1 - Interprétation des résultats

1 1 Clinique

Les signes cliniques observés ne sont pas des signes spécifiques ou discriminant du degré de l'atteinte, comme cela a déjà été objectivé dans d'autres études (4)

Nous nous intéressons ici plus particulièrement à la détermination de l'envahissement précoce du SNC et donc aux signes neurologiques. La population étudiée est une population recueillie lors de dépistage, elle correspond donc à une population peu atteinte.

En pratique, les tableaux cliniques décrits par les anciens auteurs sont actuellement rarement observés en dépistage actif sur le terrain et parmi les 105 sujets examinés seuls 11 présentaient des signes neurologiques avérés.

Des études antérieures ont montré l'importance de certains signes au début comme les troubles psychiatriques (5) et la modification des réflexes archaïques (4), signes cliniques dont nous allons tenir compte dans la suite de l'étude.

1 2 Profil protidique sérique

Les marqueurs de l'inflammation sont significativement augmentés chez les malades par rapport aux témoins ($p < 0,0001$) pour l'ensemble des marqueurs, sauf pour la transferrine ($p = 0,025$) et l'haptoglobine dont la différence est non significative.

En comparant ces données aux stades de la maladie, seules Les IgG ($p = 0,028$), l'albumine ($p = 0,009$) et les protéines totales ($p = 0,05$) sont significativement augmentées en P2. En pratique, en comparant les moyennes, la différence par rapport aux stades de la maladie est peu importante et difficile à exploiter. Les variables sériques étudiées ne semblent pas apporter de réponse concernant un facteur prédictif du stade.

1 3 Profil du LCR

Tous les marqueurs étudiés sont significativement augmentés en P2.
($p < 0,0001$).

1 4 Anticorps anti-galC

En corrélant les anticorps anti-GalC du sérum avec les autres marqueurs sériques mesurés et en considérant uniquement la population des malades, il n'y a pas de corrélation significative entre les anticorps anti-GalC du sérum et les autres marqueurs sauf pour la transferrine.

L'augmentation sérique des anticorps anti-GalC semble donc indépendante de celle des principaux marqueurs de l'inflammation.

La comparaison de la positivité en anti-GalC dans le sérum et de la cytorachie ($<$ ou $=$ à 5 cellules/ μ l ; $>$ 5 cellules / μ l) n'est pas significative ($p = 0,1215$) : les anticorps anti-GalC sériques ne permettent pas de distinguer entre sujets en P2 et sujets en P1.

Les anticorps anti-GalC du LCR sont présent chez 22 sujets dont 20 en P2 et 2 en P1 et sont significativement corrélés avec les autres marqueurs dosés dans le LCR ($p = 0,0001$).

En corrélant entre elles les données des anti-GalC du LCR et du sérum, on n'observe pas de corrélation significative ($p = 0,2149$) entre ces 2 données. Ce résultat peut correspondre à l'existence d'une synthèse intrathécale des anticorps anti-GalC du LCR.

2 - Anticorps anti-GalC et signes neurologiques

Les marqueurs immunologiques et inflammatoires décrits précédemment sont spécifiques des malades mais non de leur stade d'atteinte. Les anticorps anti-GalC représentent un marqueur plus précis de l'atteinte neurologique puisqu'ils sont dirigés contre la myéline et ne représentent pas un signe général d'infection. Ils peuvent donc être un facteur prédictif du stade d'atteinte et notamment du début des troubles neurologiques en les comparant aux signes cliniques observés. Le tableau IV montre la répartition de la présence des anticorps anti-GalC en fonction des signes neurologiques définissant cinq groupes de malades.

Malades n = 105	Groupe 1 absence de signes neurologiques	Groupe 2 Troubles du comportement	Groupe 3 Réflexes archaïques seuls	Groupe 4 Troubles du comportement et réflexes archaïques	Groupe 5 Signes neurologiques évocateurs de THA
	67 (41P1, 26P2)	13 (8P1, 5P2)	10 (6P2,4P1)	4 (2P1, 2P2)	11 (11P2)
LCR T. + (*)	2 (1P1,1P2)	2 (2P2)	0	0	8 (8P2)
BHM altérée	2 (1P1,1P2)	2	2 (2P2)		7 (7P2)
Anti-GalC sérum	19 (9P1,10P2)	6 (2P1,4P2)	3 (1P1, 2P2)	0	1 (1P2)
Anti-GalC LCR	8 (2P1,6P2)	2 (2P2)	2 (2P2)	0	10 (10P2)

Tableau IV : Comparaison des signes neurologiques à la présence des anticorps anti-GalC

* LCR T+ : présence de trypanosomes dans le LCR mise en évidence lors de la détermination de la cytorachie

Les 38 sujets avec signes neurologiques sont en P2 pour 25 d'entre eux soit 64% des cas, les autres sujets sont en P1 et présentent essentiellement des troubles du comportement. Les 11 sujets qui présentent un tableau neurologique évocateur de THA sont tous en P2.

Corrélation avec les anticorps anti-GalC sériques :

Les anticorps anti-GalC sériques sont positifs 6 fois pour 13 sujets présentant des troubles du comportement (46% des cas); 1 fois pour 11 sujets présentant un tableau neurologique de THA (9% des cas) et 3 fois pour 10 sujets avec présence d'au moins un réflexe archaïque(30% des cas). Ils sont présents chez 19 sujets sans troubles neurologiques (28,4% des cas) dont 10 sont en P2 et 9 sont en P1. Les anticorps anti-GalC sont donc plus fortement associés à la présence de troubles du comportement confirmant les résultats antérieurs (1).

Corrélation avec les anti-GalC du LCR :

Les anti-GalC du LCR sont présents chez 10 sujets présentant un tableau neurologique spécifique (90, 9% des cas), chez 2 des sujets présentant des troubles du comportement (15, 3% des cas) et chez 2 des sujets avec présence de réflexes archaïques (20% des cas). Ils sont présents chez 8 sujets sans signes neurologiques (11,9% des cas).

Les anticorps anti-GalC du LCR sont significativement associés aux atteintes neurologiques car ils sont présents chez 90, 9% des sujets présentant une trypanosomose au stade avancé de la maladie. Le GalC est le constituant quantitativement majeur de la myéline, de ce fait il paraît important de définir le rôle pathogène de ces autoanticorps dans l'atteinte neurologique de la THA. Le mécanisme de la démyélinisation associée au stade d'atteinte neurologique n'est pas actuellement déterminé.

Les anticorps anti-GalC sériques ne paraissent pas être un bon marqueur de deuxième période, ils sont présents chez 27, 6% des sujets mais 66% de ces sujets ne présentent aucun signe neurologique.

Ces résultats s'opposent à l'étude menée sur des sujets de Côte d'Ivoire (1) qui concernait des patients en phase neurologique avancée avec atteinte neurologique clinique suivis à l'hôpital de Daloa et non des sujets dépistés activement lors de campagne de dépistage ce qui est le cas des patients congolais de cette étude. En fait, cette différence pourraient signifier que les anticorps anti-GalC sériques sont un marqueur plus tardif de l'atteinte neurologique que les anticorps anti-GalC du LCR.

L'origine de ces autoanticorps reste à déterminer. Il pourrait s'agir d'une réactivité croisée avec des antigènes parasitaires ou d'une réponse immune secondaire à une lésion primitive du SNC.

Conclusion

Ce travail montre que la présence d'anticorps anti-GalC dans le LCR peut représenter un bon marqueur de la deuxième période. Ce marqueur est de dosage aisé et réalisable sur le terrain.

Il faudra cependant confirmer son intérêt par une étude prospective.

Références bibliographiques

1 - AMEVIGBE M., JAUBERTEAU-MARCHAN M.O., BOUTEILLE B., DOUA F, BRETON J.C., NICOLAS J.A. and DUMAS M. - Human African trypanosomiasis : presence of antibodies to galactocerebrosides Am. J. Trop. Med. Hyg., **47** , 1992, 652-662.

2 - ASONGANYI T., LANDO G. and NGU J.L. - Serum antibodies against human brain myelin proteins in Gambian Trypanosomiasis. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1989, **69**, 213-221.

3 - AVILA J.L. and ROJAS M - Elevated cerebroside antibody levels in human visceral and cutaneous leishmaniasis, *trypanosoma rangeli* infection and chronic Chagas' disease. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1990, **43**, 52-60.

4 - BOA F.Y., TRAORE M.A., DOUA F., KOUASSI-TRAORE M.T.et GIORDANO C. - Les différents aspects cliniques actuels de la THA à T.b.g. Analyse de 300 dossiers du foyer de Daloa, Côte d'Ivoire, 1988, Bull. Soc. path. exo., **81**, 427-444.

5 - DUMAS M. and BOA Y. -Human African Trypanosomiasis. In Handbook of Clinical Neurology, revised Series, 1988, **8**, 339 -344. VINKEN P.J., BRUYN G.W. & KLAWANS H.L. ed. Elsevier Sciences Publishers. Amsterdam..

6 - GREENWOOD B.M. and WHITTLE H.C. - The pathogenesis of sleeping sickness. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, **74**, 716-725.

- 7 - HUNTER C. A., JENNINGS F. W., TIERNEY J. F., MURRAY M. and KENNEDY P.G.E. - Correlation of autoantibody titres with central nervous system pathology in experimental African trypanosomiasis. *J. Neuroimmunol.*, 1992, **41**, 143-148.
- 8 - JAUBERTEAU M. O., BEN YOUNES- CHENOUI A., AMEVIGBE M., BOUTEILLE B., DUMAS M., BRETON J.C. and BAUMANN N. - Galactocerebrosides are antigens for immunoglobulins in sera of an experimental model of trypanosomiasis in sheep. *J. Neurol.Sci.*, 1991, **101**, 82-86.
- 9 - KOBAYAKAWA T., LOUIS J., SHOZO I. and LAMBERT P.H. - Autoimmune response to DNA, red cells, and thymocyte antigens in association with polyclonal antibody synthesis during experimental african Trypanosomiasis. *J. Immunol.*, 1979, **122**, 296- 301.
- 10 - MAC KENZIE A.R. and BOREHAM P.F.L. - Autoimmunity in Trypanosome infections. I. Tissus autoantibodies in Trypanosoma brucei infections of the rabbit., *Immunology*, 1974, **26**, 1225-1238.
- 11 - MAGNUS E., VERVOORT T. and VAN MEIRVENNE N.- A card agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for serological diagnosis of *T. b. gambiense*. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1978, **58**, 169-176.
- 12 - PENTREATH V.W. - Trypanosomiasis and the nervous system. Pathology and immunology. *Trans R. Soc.Trop.Med.Hyg.*, 1995, **89**, 9-15.
- 13 - POLTERA A.A. - Immunopathological and chemotherapeutic studies in experimental trypanosomiasis with special reference to the heart and brain. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1980, **74**, 6, 706-715.

14 - REIBER H. - The discrimination between different Blood/CSF Barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. J. Neurol., 1980, **224**, 89-99.

15 - WOLGA J.I., RIBEIRO C.D., GAILLAT J.P., STAHL J.P., MICOUD M., et GENTILINI M. - Autoanticorps dans les trypanosomiasés humaines africaines (Anticorps anti-muscle lisse au cours d'une maladie à *Trypanosoma gambiense*). Bull. Soc. Path. Ex., 1981, **74**, 676-684.

16 - WOO P.T.K. - The haematocrite centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Tropica, 1970, **27**, 384-386.

ANALYSE MULTIVARIEE APPLIQUEE À L'ETUDE DES STADES DE LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINNE.

Bisser S.(1), Séné E.(5), Preux P. M.(1), Bouteille B.(2), Stanghellini J.(7), Boutros-Toni F.

(4), Jauberteau M.O.J. (3), Marchan F.(7) Van Meirvenne N. (8) et Dumas M (1).

(1) Institut d'Epidémiologie Neurologique et de Neurologie Tropicale, (2) Service de

Parasitologie, (3) Service d' Immunologie,

(4) : Service de Biostatistiques

Faculté de médecine, 2 rue du Docteur Raymond Marcland, 87025 Limoges Cédex, France ;

(5) : Unité fonctionnelle d'information médicale, hôpital du Cluzeau

(6) : Service de grandes endémies, Brazzaville, Congo ;

(7) : Faculté des Lettres et des Sciences Humaines, Limoges, France.

(8) Institut de Médecine Tropicale, Anvers , Belgique.

Résumé

Une étude réalisée au Congo lors de campagne de dépistage de la trypanosomose humaine africaine (THA) a permis de recueillir des données cliniques complétées par des données biologiques sériques et du liquide céphalorachidien. 26 paramètres significatifs entre malades et témoins ou entre sujets en première ou deuxième période de la maladie ont été retenus afin d'étudier leurs corrélations par rapport aux stades classiquement décrits. L'étude s'est poursuivie en utilisant d'autres critères de stade comme la présence des anticorps antigalactocérébrosides dans le sérum et le LCR ou le degré d'altération de la barrière hémoméningée. Une analyse discriminante puis une analyse factorielle des correspondances ont été réalisées mais aucun paramètre ne permet de distinguer les sujets en début de phase nerveuse des autres malades . La cytorachie n'est pas un critère très fiable de distinction des stades de la maladie quand elle est peu avancée même si elle est largement utilisé sur le

terrain. mais les autres paramètres étudiés ne sont pas plus discriminants. Une étude prospective devrait compléter ces données afin de vérifier le rôle exacte des paramètres pertinents testés.

Mots-clés : THA, Congo, stades de la maladie, anticorps antigalactocérébrosides, anticorps spécifiques anti-trypanosomes LiTat 1.3,1.5,1.6 , analyse multivariée.

Introduction

La maladie du sommeil ou trypanosomose humaine africaine (THA) évolue en deux stades : une phase de multiplication locale au niveau du point de piqûre suivi d'une dissémination lymphatico-sanguine et une phase de polarisation cérébrale suivi d'une atteinte irréversible du système nerveux central (SNC). Le moment du passage au niveau du SNC n'est pas connu avec précision (6, 11) et est sujet à de nombreuses controverses (3, 5, 12, 15). En pratique sur le terrain, la cytorachie et /ou la présence de trypanosomes dans le liquide céphalorachidien (LCR) permet de déterminer le passage en deuxième période (P2). Cette détermination est importante car elle détermine le choix thérapeutique. En première période (P1), le traitement est la pentamidine et en deuxième période (P2) c'est le mélarsoprol (arsobal^R), toxique et mortel par encéphalopathie dans 5% des cas (8). Sur le terrain, il est difficile d'admettre ce risque sans critère fiable et la cytorachie semble un élément aléatoire (10) surtout lorsqu'elle est faible (de 5 à 30, 40 cellules).

Une étude a été réalisée au Congo sur 105 malades atteints de Trypanosomose. Un ensemble de données cliniques et biologiques ont été recueillis afin de trouver un faisceau d'arguments pouvant classer les sujets en stades suivant des critères différents de ceux classiquement décrits et utilisés sur le terrain à savoir :

- P1 pour une cytorachie $<$ ou $=$ à 5 sans présence de trypanosomes
- P2 pour une cytorachie $>$ à 5 et /ou présence de trypanosomes .

Malades et méthode

Les malades ont été inclus lors de campagne de dépistage dans les principaux foyers de Trypanosomose au Congo (Pool, Bouenza, Plateaux) (7). Le dépistage était basé sur l'utilisation du Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) (9) puis une étude parasitologique a confirmé le diagnostic. Seuls les sujets où le Trypanosome a été mis en évidence soit dans le sang, soit dans la lymphe, soit dans le liquide céphalorachidien ont été considéré comme malades. Les malades ont été appariés à un témoin d'après le sexe, l'âge et le village d'origine, négatif pour le test sérologique.

Chaque sujet a été soumis à un questionnaire comprenant les antécédents de maladie, les symptômes actuels, leur durée, leur mode de début, les atteintes morbides associées. Un examen clinique et neurologique a complété ces données. Les sérums prélevés sur place ont été centrifugés, aliquotés maintenus à 0°C puis congelés à - 70°C dès le retour à Brazzaville et jusqu'à leur transfert à Limoges.

Analyses biologiques

- dans le sérum : un profil biochimique standard est effectué sur autoanalyseur CHEM-1 (Technicon) comprenant 14 paramètres : glucose, urée, créatinine, sodium, potassium, chlore, calcium, phosphore, acide urique, bilirubine totale, bilirubine directe, cholestérol total, triglycérides et protides totaux. Sur ce même appareil, 7 activités enzymatiques ont été mesurées : aspartate-amino-transférase (ASAT), alanine-amino-transférase (ALAT), lactico-déshydrogénase (LDH), créatine-phosphokinase (CPK), phosphatase alcaline (PAL), gamma-glutamyl-transférase (gGT) et amylase. Huit protéines sériques ont été quantifiées par néphélométrie sur un appareil BNA Behring (4) : immunoglobulines G (Ig G), immunoglobulines M (Ig M), immunoglobulines A (Ig A), fraction C3c du complément, transferrine, orosomucoïde, haptoglobine et albumine.

Des dosages plus spécifiques sont effectués à l'aide d'un test ELISA pour la recherche des anticorps anti-Galactocérobrosides (anti-GalC) connus pour être augmentés dans la trypanosomose (1). De même ont été dosés par une technique ELISA des anticorps spécifiques antitrypanosome de type IgG, A, M. L'antigène utilisé dans cette technique est un mélange de 3 antigènes variables de surface de *Trypanosoma brucei gambiense* (LiTat 1.3, LiTat 1.5, LiTat 1.6) et les échantillons ont été analysés à l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Pr Van Merveinne). Parallèlement, un deuxième test mis au point à Anvers a été dosé c'est le test d'agglutination au Latex/*T.b. gambiense*. Il s'agit d'un test d'agglutination indirecte au latex pour la détection d'anticorps (2). Le réactif comprend des antigènes variables semi-purifiés de *Trypanosoma brucei gambiense* fixés de manière covalente à des particules de latex en suspension. Le réactif est ajouté au sang, sérum, plasma ou liquide céphalorachidien. La présence d'anticorps est révélée par une agglutination macroscopique. L'antigène utilisé est comme pour l'Elisa précédemment décrit un mélange d'antigènes de surface variables semi-purifiés de formes sanguicoles de *T.b. gambiense* de type LiTat 1.3, 1.5, 1.6.

- dans le LCR : un dosage néphélométrique sur BNA permet d'évaluer : la quantité d'immunoglobulines G et M totales, l'albumine et par dosage couplé avec le sérum du même sujet une évaluation du degré d'altération de la barrière hémoméningée et de la synthèse intrathécale d'IgG (13, 14). La protéinorachie dosée par une technique au bleu de Coomassie et les mêmes immunoglobulines G, M, A spécifiques anti-trypanosomes que dans le sérum (LiTat 1-3, 1-5 et 1-6) ont été dosés à l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers. Les anticorps anti-GalC du LCR ont été évalués par technique Elisa.

- **analyse statistique :**

Les données cliniques sont analysées sur EPIINFO et les variables qualitatives sont comparées entre malades et témoins puis dans la population des malades en fonction du stade P1 ou P2 par un test CHI2. Le seuil de signification retenu est $p = 0,05$.

Les données biologiques quantitatives sont analysées par une ANOVA à 3 groupes (P1, P2, témoins), puis les variables significatives sont comparées par un test t .

On retient pour l'analyse multivariée les variables significativement augmentées par rapport aux témoins. L' ensemble des données est ensuite introduite dans un modèle d'analyse discriminante et d'analyse factorielle des correspondances afin de déterminer des variables pouvant cerner le début de la phase neurologique.

Résultats

La population d'étude comprend 105 sujets atteints de THA et une population témoin de 59 sujets. Au total 52 sujets sont en première période (cytorachie $<$ ou $=$ 5) d'après la classification effectuée sur le terrain et 53 en deuxième période de la maladie (cytorachie $>$ 5).

1 Clinique

Les signes cliniques retrouvés significatifs entre malades et témoins sont pour les signes de début de maladie, les modifications des rythmes nyctéméraux (insomnie nocturne, somnolence diurne), l'anorexie, l'altération de l'état général et les troubles du comportement. Les signes d'examen clinique retrouvés sont les adénopathies cervicales, l'amaigrissement, les pâleurs des conjonctives, une diminution de la tension artérielle, la splénomégalie et les oedèmes des téguments.

Les signes neurologiques recherchés sont discriminant entre malades et témoins pour les troubles de l'humeur et du caractère, les troubles du sommeil, l'hyperréflexivité ostéotendineuse, les troubles musculaires et du tonus et la présence de réflexes archaïques notamment les réflexes pollico et palmomentoniers.

En fonction du stade P1/P2 les seuls signes cliniques qui restent distinctifs sont l'altération de l'état général, les troubles du comportement et la présence des réflexes archaïques.

Dans la suite de l'analyse, la présence de ces 3 signes est prise en compte simultanément et correspond à la présence de signes cliniques spécifiques de l'atteinte neurologique.

2 Biologie

Les variables sériques suivantes sont significativement différentes chez les malades par rapport aux témoins : cholestérol total, protéines totales, albumine, IgG, IgA, IgM, transferrine, C3c, orosomucoïde, anticorps anti-GalC, IgG, A, M spécifiques et test latex sérique.(tableau I).

Variables	témoins		malades		Test t p
	N = 59		N = 105		
	moyenne (± écartype)		moyenne (± écartype)		
Cholestérol (g/l)	3,36	(±0,8)	2,63	(±0,7)	p= 0,0001
Protides totaux (g/l)	82, 4	(± 6,8)	90, 3	(± 8,1)	p= 0,0001
Albumine (g/l)	40, 8	(± 4,7)	35, 2	(± 4,8)	p= 0,0001
Ig G (g/l)	28	(±11)	38	(±8,4)	p= 0,0001
Ig A (g/l)	2, 2	(± 1,1)	3	(±1,3)	p= 0,0001
Ig M (g/l)	2, 9	(± 1,7)	16,6	(±9)	p= 0,0001
Transferrine (g/l)	3, 02	(± 0,5)	2, 8	(± 0,5)	p= 0,025
C3 c (g/l)	0, 8	(± 0,2)	0,7	(± 0,2)	p= 0,0001
Orosomucoide (g/l)	0, 9	(± 0,3)	1	(± 0,3)	p= 0,0019
Anti-GalC (D.O.)	0,25	(±0,34)	0,627	(±0,69)	p = 0,0002
IgG spécifiques (UI/l)	1	(±0,3)	42	(±33)	p= 0,0001
IgA spécifiques (UI/l)	0,2	(±0,6)	22,4	(±22,4)	p=0,0001
IgM spécifiques (UI/l)	0,8	(±2,5)	71,6	(±71,6)	p=0,0001
Latex titre	0,27	(±1,46)	318	(±374,3)	p = 0,0001

Tableau I : Variables sériques significatives entre malades et témoins avec la valeur moyenne, l'écartype et le degré de signification.

En fonction des stades P1/P2 les seules variables restant significatives sont les IgG totales et l'albumine (Tableau I)

Variables	P 1		P 2		Test t p
	N= 53		N= 52		
	moyenne (± écartype)		moyenne (± écartype)		
Cholestérol (g/l)	2,5	(±0,59)	2,6	(± 0,7)	p = 0,6895
Protides totaux (g/l)	88, 6	(± 8,1)	92	(± 7,7)	p = 0,0553
Albumine (g/l)	36,5	(± 4,47)	33,9	(± 4,8)	p = 0,0093
Ig G (g/l)	35,7	(± 8,3)	39,6	(± 8,02)	p = 0,0286
Ig A (g/l)	2,8	(± 1,3)	3,3	(± 1,2)	p = 0,1198
Ig M (g/l)	14,7	(±7,2)	18,4	(± 10)	p = 0,0615
Transferrine (g/l)	2, 85	(± 0,5)	2, 8	(± 0,5)	p = 0, 846
C3 c (g/l)	0,7	(± 0,1)	0,6	(± 0,1)	p = 0,1128
Orosomucoide (g/l)	1,03	(± 0,3)	1,06	(± 0,3)	p = 0, 698
Anti-GalC (D.O.)	0,53	(±0,64)	0,74	(± 0,73)	p = 0,1215
IgG spécifiques (UI/l)	41,7	(± 29,7)	43,2	(±29,7)	p = 0,8253
IgA spécifiques (UI/l)	22,1	(± 23,3)	23,1	(± 20,8)	p = 0, 821
IgM spécifiques (UI/l)	69,8	(±59,6)	74,4	(±67,3)	p = 0,7147
Latex titre	305,7	(±373)	326,4	(±373)	p = 0,1215

Tableau II : variables sériques avec les moyennes, écartypes et degré de signification en fonction du stade de la maladie.

Dans le LCR toutes les variables sont significativement augmentées en deuxième période sauf pour les IgA spécifiques avec une probabilité $p < 0,05$ (tableau III)

Variables	P1	P2	Test t	CHI2
LCR quantitatives	n=53	n=52	p	p
Albumine	mg/l 114,8	(56,7) 183,6	(115,9)	p = 0,0004
IgG totales	mg/l 52	(+/31) 138	(+/-118)	p = 0,001
IgM totales	mg/l 8	(+/-25) 65	(+/-106)	p = 0,0005
Protéines totales	mg/l 293	(+/-143) 495	(+/-363)	p = 0,0004
IgG spécifiques	mUI/l 73	(+/-113) 262	(+/-326)	p = 0,0002
IgA spécifiques	mUI/l 23	(+/-47) 192	(+/-661)	p = 0,07
IgM spécifiques	mUI/l 54	(+/-148) 338	(+/-476)	p = 0,0001
BHM altérée	(+) 1	10		p = 0,0071
Synthèse SNC	(+) 2	16		p = 0,02
Latex (code 0-9)				p < 0,0001
Anti-GalC	(+) 2	22		p = 0,0047

Tableau III : Variables du LCR, valeur moyenne, écart type et probabilité p.

L'ensemble des valeurs significatives ci-dessus ont été introduites dans un modèle d'analyse discriminante. La séparation des stades P1 et P2 par une analyse discriminante pas à pas a permis un classement correct s'élevant à 65, 66% en retenant les paramètres suivants : albumine sérique (AlbS) et albumine du LCR (AlbLCR). Les équations discriminantes de Fisher sont données par :

$$P1 = 2,0546 (\text{AlbS}) - 0,0052 (\text{AlbLCR}) - 37,51$$

$$P2 = 1,908 (\text{AlbS}) + 0,00448 (\text{AlbLCR}) - 33,839$$

Pour parvenir à un classement correct s' élevant à 74, 29% il a fallu introduire 9 paramètres (AlbLCR, AlbS, IgG sérique, IgA sérique, IgM sériques, les anti-GalC sériques, la fraction C3c du complément, l'orosomucoïde et le cholestérol).

Dans un 2ème temps, l'ensemble des données a été soumis à une analyse factorielle des correspondances en réalisant 3 groupes. Chaque variable biologique a été dichotomisée en prenant la moyenne pour seuil.

Les différents groupes étudiés se répartissent comme suit :

- étude de la population en fonction des stades classiquement décrits répartis en 3 groupes (fig. 1)

P1 : < ou = 5 cellules

P2 : 5 - 100 cellules

P3 : > 100 cellules

- étude de la population en modifiant le seuil (fig. 2).

P1 : < ou = 20 cellules

P2 : 20 - 100 cellules

P3 : 100 - nombre max.

- et (fig.3)

P1 : < ou = 5 cellules

P2 : 5 - 20 cellules

P3 : 21 - nombre max.

- étude de la population en modifiant le critère distinguant les stades . Nous avons pris en compte 2 variables pouvant être discriminantes d'après nos études antérieures (les anticorps anti-GalC du LCR et le degré d' altération de la BHM). Dans ces conditions, nous obtenons les deux populations suivantes :

- Barrière hémoméningée comme critère de degré d'atteinte (fig. 4)

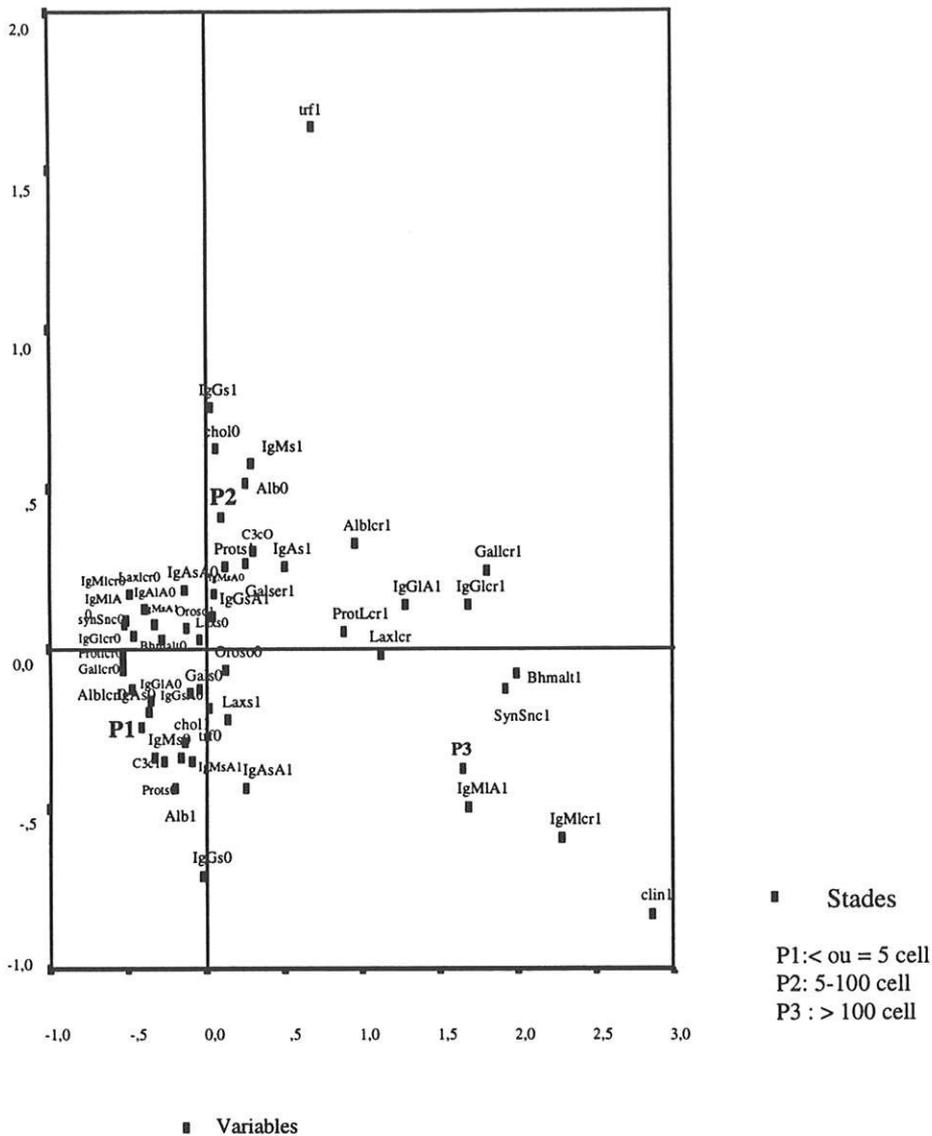
BHM1 : pas d'altération BHM

BHM2 : pas d'altération BHM
mais synthèse intrathécale

BHM3 : altération de la BHM
avec ou sans synthèse

- anticorps antiGalC comme critère de degré d'atteinte (fig.5)

- GAL1 :** absence d'anticorps
antiGalC
- GAL2 :** anticorps antiGalC
sérique
- GAL3 :** anticorps antiGalC LCR
+/- sérum



IgASA : IgA sériques spécifiques antitrypanosomes
IgALA : IgA LCR spécifiques antitrypanosomes
IgMSA : IgM sériques spécifiques antitrypanosomes
IgMLA : IgM LCR spécifiques antitrypanosomes
IgGSA : IgG sériques spécifiques antitrypanosomes
IgGLA : IgG LCR spécifiques antitrypanosomes
IgAS : IgA totales sériques
IgAL : IgA totales LCR
IgMS : IgM totales sériques
IgML : IgM totales LCR
IgGS : IgG totales sériques
IgGL : IgG totales LCR

AlbS : albumine sérique
AlbL : albumine LCR
ProtS : protéines sériques
ProtLcr : protéines totales LCR
LaxS : Test latex sérique
LaxLcr : Test latex LCR
Galsr : anticorps antiGalC sérique
Gallcr : anticorps antiGalC LCR
BHMal : altération de la barrière hémoméningée
SynSnc : synthèse intrathécale d'IgG
C3c : fraction C3 du complément
Trf : transferrine
Oroso : orosomucoïde
Chol : cholestérol

Fig. 1 : répartition de la population en fonction de la cytorachie, P1(0-5), P2(5-100), P3(100,+)

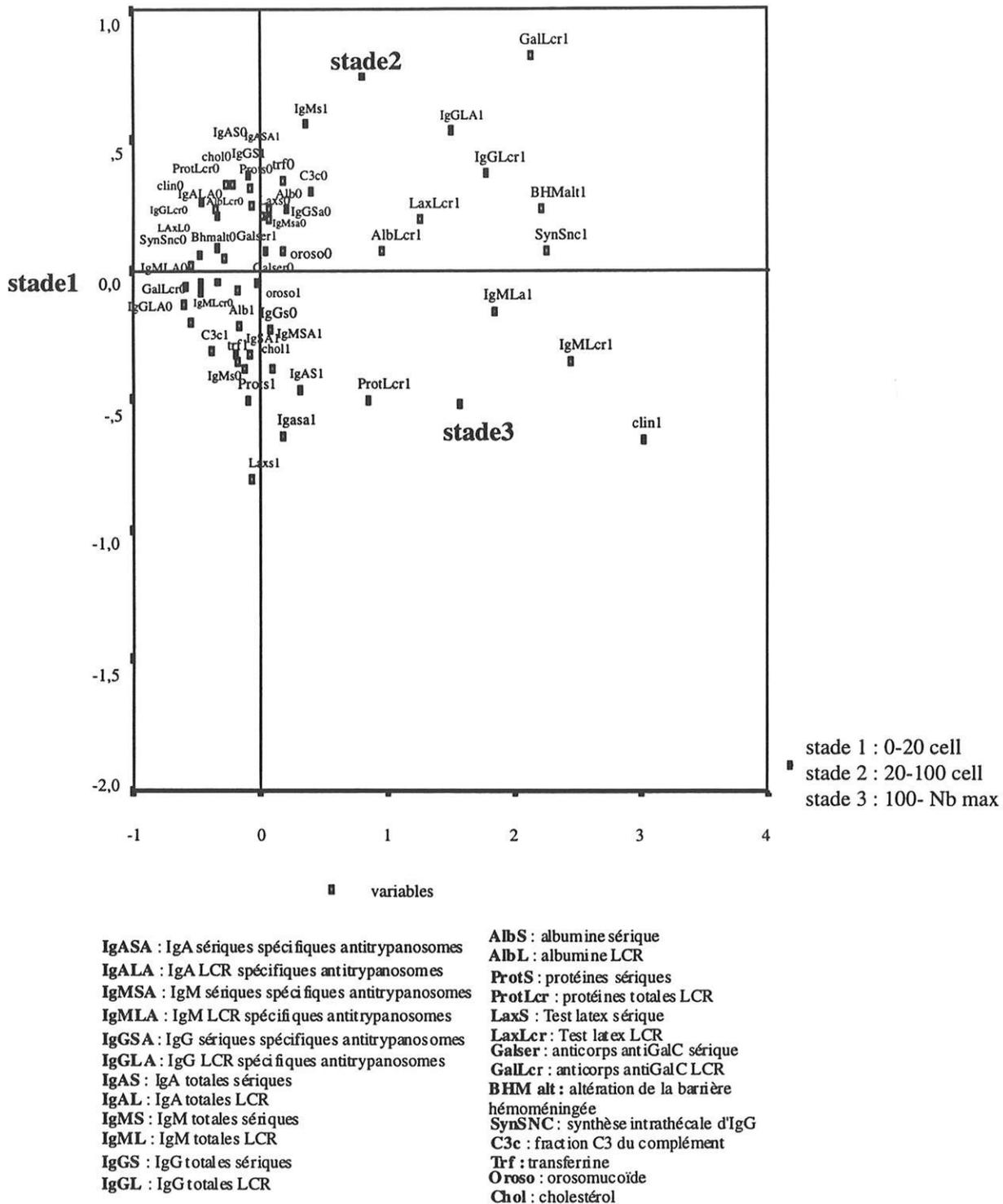
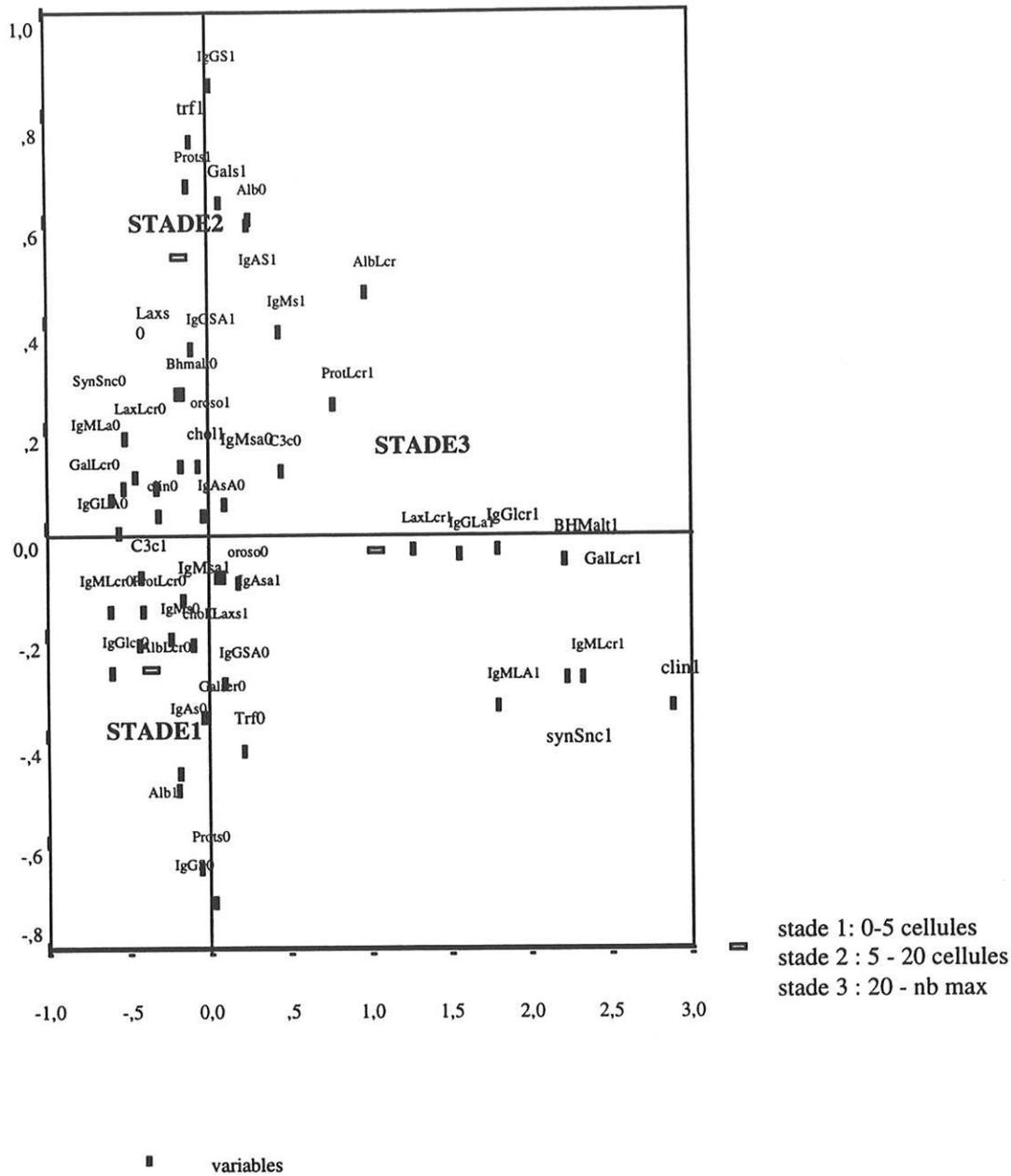
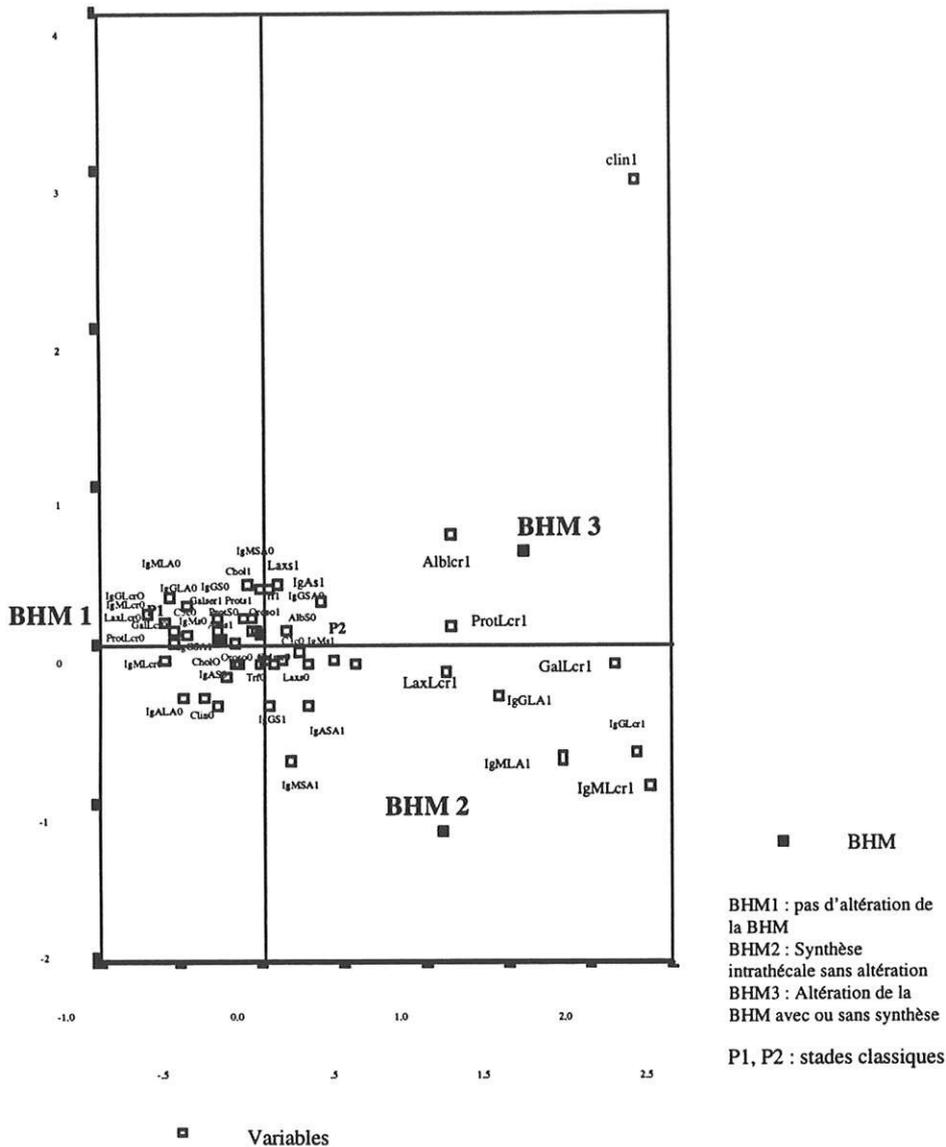


Fig. 2 : répartition de la population en fonction de la cytorachie, P1(0-20), P2(20-100), P3(100,+)



IgASA : IgA sériques spécifiques antitrypanosomes
IgALA : IgA LCR spécifiques antitrypanosomes
IgMSA : IgM sériques spécifiques antitrypanosomes
IgMLA : IgM LCR spécifiques antitrypanosomes
IgGSA : IgG sériques spécifiques antitrypanosomes
IgGLA : IgG LCR spécifiques antitrypanosomes
IgAS : IgA totales sériques
IgAL : IgA totales LCR
IgMS : IgM totales sériques
IgML : IgM totales LCR
IgGS : IgG totales sériques
IgGL : IgG totales LCR
AlbS : albumine sérique
AlbL : albumine LCR
ProtS : protéines sériques
ProtLcr : protéines totales LCR
LaxS : Test latex sérique
LaxLcr : Test latex LCR
Galsr : anticorps antiGalC sérique
Gallcr : anticorps antiGalC LCR
BHM alt : altération de la barrière hémoméningée
SynSNC : synthèse intrathécale d'IgG
C3c : fraction C3 du complément
Trf : transferrine
Oroso : orosomucoïde
Chol : cholestérol

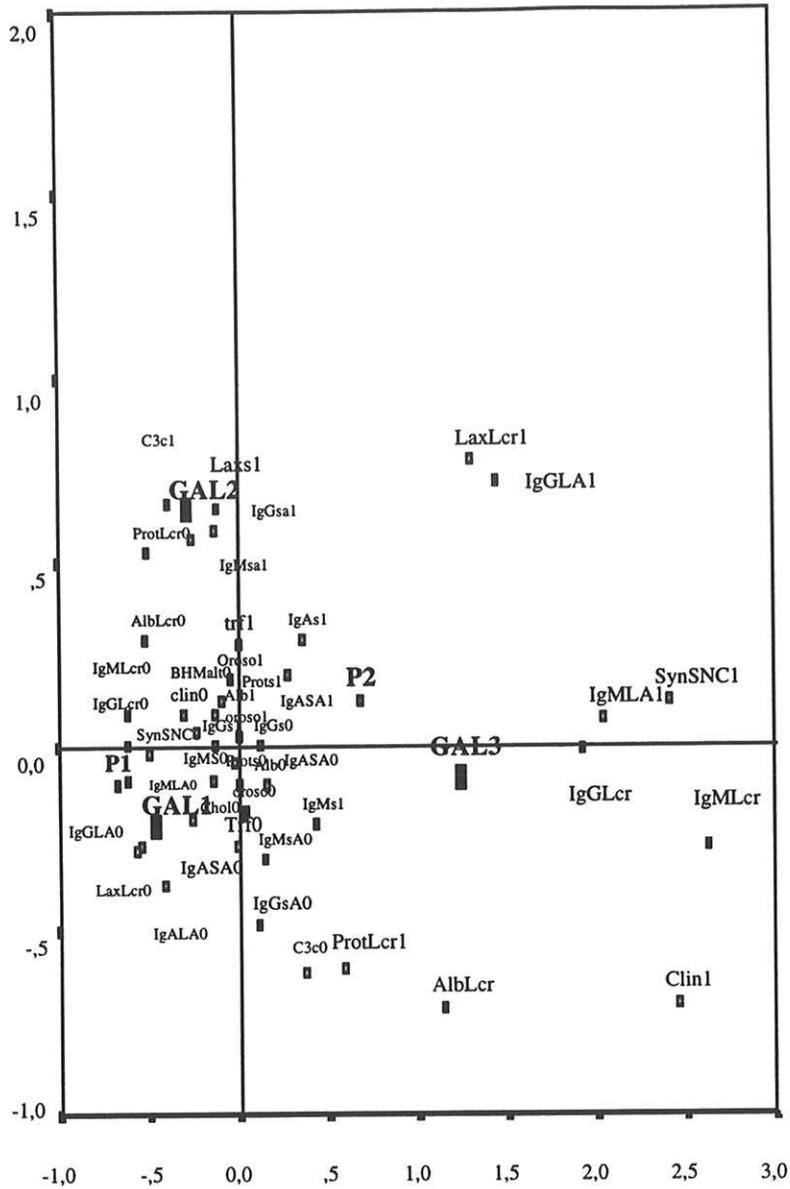
Fig. 3 : répartition de la population en fonction de la cytorachie, P1(0-5), P2(5-100), P3(100,+)



IgASA : IgA sériques spécifiques antitrypanosomes
 IgALA : IgA LCR spécifiques antitrypanosomes
 IgMSA : IgM sériques spécifiques antitrypanosomes
 IgMLA : IgM LCR spécifiques antitrypanosomes
 IgGSA : IgG sériques spécifiques antitrypanosomes
 IgGLA : IgG LCR spécifiques antitrypanosomes
 IgAS : IgA totales sériques
 IgAL : IgA totales LCR
 IgMS : IgM totales sériques
 IgML : IgM totales LCR
 IgGS : IgG totales sériques
 IgGL : IgG totales LCR

AlbS : albumine sérique
 AlbL : albumine LCR
 ProtS : protéines sériques
 ProtLcr : protéines totales LCR
 LaxS : Test latex sérique
 LaxLcr : Test latex LCR
 Galser : anticorps antiGalC sérique
 GalLcr : anticorps antiGalC LCR
 BHM alt : altération de la barrière hémoméningée
 SynSNC : synthèse intrathécale d'IgG
 C3c : fraction C3 du complément
 Trf : transferrine
 Oros : orosomucoïde
 Chol : cholestérol

Fig. 4 : BHM comme critère de stade



■ variables

■ Stades

IgASA : IgA sériques spécifiques antitrypanosomes
IgALA : IgA LCR spécifiques antitrypanosomes
IgMSA : IgM sériques spécifiques antitrypanosomes
IgMLA : IgM LCR spécifiques antitrypanosomes
IgGSA : IgG sériques spécifiques antitrypanosomes
IgGLA : IgG LCR spécifiques antitrypanosomes
IgAS : IgA totales sériques
IgAL : IgA totales LCR
IgMS : IgM totales sériques
IgML : IgM totales LCR
IgGS : IgG totales sériques
IgGL : IgG totales LCR

AlbS : albumine sérique
AlbL : albumine LCR
ProtS : protéines sériques
ProtLcr : protéines totales LCR
LaxS : Test latex sérique
LaxLcr : Test latex LCR
Galsr : anticorps antiGalC sérique
Gallcr : anticorps antiGalC LCR
BHM alt : altération de la barrière hémoméningée
SynSNC : synthèse intrathécale d'IgG
C3c : fraction C3 du complément
Trf : transferrine
Oroso : orosomucoïde
Chol : cholestérol

Gal1 : stade 1

Gal2 : stade 2

Gal3 : stade 3

P1, P2:stades classiques

Fig. 5 : anticorps antiGalC comme critère de stade

Analyse des résultats

1 Analyse des résultats avec modification du seuil de la cytorachie

Les 3 analyses montrent la concordance des résultats quand le degré d'atteinte est élevé. Les variables du LCR testés sont toutes agrégées autour du stade 3 et de la présence des signes cliniques neurologiques.

Les stades 1-2 sont très proches du centre de gravité représenté par le point de concours des deux axes. On peut cependant noter autour du stade 2 les variables significatives suivantes : IgG totales sériques, Albumine sérique, C3c, IgM totales sériques, cholestérol, protéines sériques et transferrine.

En modifiant le seuil de la cytorachie avec un stade 1 allant jusqu'à 20 cellules, on obtient une meilleure différenciation des 3 stades mais les variables sériques testées restent agrégées autour du centre de gravité et aucune ne permet de confirmer cette attitude.

En prenant la population des sujets entre 5-20 cellules comme P2, les résultats se modifient peu.

La distinction classique en fonction de la cytorachie ne permet pas d'établir un seuil fiable du début de l'atteinte nerveuse. En augmentant le seuil à 20, la définition semble plus précise et ce sont les variables du LCR et non les variables sériques qui peuvent permettre d'apporter une solution. Aucune des variables du LCR ne paraît être plus spécifiques qu'une autre mais il ne paraît pas indispensable de disposer de toutes. Il faut noter que les signes cliniques neurologiques forment une entité bien distincte des stades décrits.

2 Analyse des résultats avec modification du critère d'identification des stades

2 1 Barrière hémoméningée

La différenciation des variables en fonction de l'altération de la barrière hémoméningée permet de retrouver la même structure qu'avec la cytorachie. Les variables du LCR sont corrélées avec les altérations majeures de la BHM et correspondent aux signes cliniques neurologiques. Les variables sériques sont agrégées autour du centre de gravité et ne sont pas interprétables. Cependant les populations de variables décrites sont réparties en fonction de BHM1 d'une part et de BHM3 pour les variables augmentées dans le LCR. BHM2 se situe entre ces 2 groupes pouvant représenter une bonne différenciation des groupes de malades. Les stades classiques représentés ne se distinguent pas de la population agrégée autour de BHM1.

2 2 Anticorps antiGalC

Les variables du LCR sont corrélés avec GAL3 et les signes cliniques neurologiques. GAL1 et GAL2 se répartissent autour du centre de gravité et des stades classiques.

La distinction des variables en fonction d'un autre critère de stade 2 que la cytorachie aboutit aux mêmes types de répartition des variables montrant que ces critères sont interchangeable. Aucun ne semble plus représentatif mais la cytorachie n'est pas un critère exclusif de diagnostic de stade 2.

Cette analyse ne permet pas de définir un critère exclusif de stade 2. Elle montre le peu de définition obtenu avec la cytorachie tout comme avec les autres critères pris comme distinction des stades. La situation est claire pour les stades avancés mais pour les autres aucune variable ne montre un intérêt particulier.

L'analyse multivariée ne permet pas d'identifier de population représentant une population intermédiaire entre les malades graves et les sujets en stade lymphatico-sanguin. On peut

cependant confirmer l'attitude actuelle sur le terrain qui consiste à augmenter le seuil du stade 1 à 20 cellules/ μ l.

Conclusion

L'analyse des données ne permet pas d'identifier un critère pouvant identifier les sujets entrant en deuxième phase de la maladie. Quand les signes cliniques neurologiques sont présents, les altérations du LCR sont importantes et les variables testées sont corrélées avec tous les paramètres testés dans ce liquide biologique. La cytorachie n'est pas un critère plus discriminant que les autres, mais il demeure le plus facile à rechercher sur le terrain. Cette étude ne permet pas de rejeter l'ensemble des paramètres étudiés car elle réalise une étude transversale d'une population et il faudrait contrôler les résultats des différents tests diagnostiques proposés par une étude prospective.

Références bibliographiques

- 1 - AMEVIGBE M., JAUBERTEAU-MARCHAN M.O., BOUTEILLE B., DOUA F., BRETON J.C., NICOLAS J.A. and DUMAS M. - Human African trypanosomiasis : presence of antibodies to galactocerebrosides Am. J. Trop. Med. Hyg. **47** , 1992, 652-662

- 2 - BÜSCHER P., DRAELANTS E., MAGNUS E., VERVOORT T. and VAN MEIRVENNE N. - An experimental latex agglutination test for antibody detection in human african trypanosomiasis. Ann. Soc. belge Méd. Trop., 1991, **71**, 267-273.

- 3 - DOUA F. et BOA YAPO F. -Actualités thérapeutiques de la trypanosomiase. Bull. Soc. Path. Ex., 1994, **87**, 337-340.

- 4 -GIRAUDET P., COUDON B., POSTEL P. et ALEXANDRE J.A. - Profils protéiques. Behring diagnostic 1992.

- 5 - GREENWOOD B.M. and WHITTLE H.C. - Cerebrospinal fluid IgM in patients with sleeping sickness. Lancet, 1973, **2**, 525-527.

- 6 - GREENWOOD B.M. and WHITTLE H.C. - The pathogenesis of sleeping sickness.- Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, **74**, 716-725.

- 7 - JANNIN J., PENCHENIER L., EOZENOU, VENTROU P., MIALEBAMA J., LOUYA F., BOBENDA T., SAMBA F. et CODDY ZITSMALÉ - Recrudescence actuelle de la THA dans le foyer de la Sangha (Cuvette) au Congo. Bull. Soc. Path. Ex., 1992, **85**, 31-38.

- 8 - KUZOE F.- Trypanosomiase africaine. Progrès de la recherche 1991-92. XI^e rapport du programme.OMS Genève, 1993.

- 9 - MAGNUS E., VERVOORT T. and VAN MEIRVENNE N.- A card agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for serological diagnosis of *T. b. gambiense*. Ann. Soc. Belge Méd. Trop., 1978, **58**, 169-176.
- 10 - NEUJEAN G. - Contributions à l'étude des liquides rachidiens et céphaliques dans la maladie du sommeil à "Trypanosoma gambiense". Ann.Soc. Belge Méd. Trop.,1950, **30**, 1225-1236.
- 11 - PENTREATH V.W. - Trypanosomiasis and the nervous system. Pathology and immunology. Trans R. Soc.Trop.Med.Hyg., 1995, **89**, 9-15.
- 12 - PEPIN J. et KHONDE N. - Relpases following treatment of early-stage *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness with a combination of pentamidine ad suramin. Trans R. Soc.Trop.Med.Hyg., 1996, **90**, 183-186.
- 13 - REIBER H. - The discrimination between different Blood/CSF Barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. J. Neurol., 1980, **224**, 89-99.
- 14 - TIBBLING G., LINK H. and OHMAN S. - Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders I.Scand.J.Clin.Lab.Invest.,1977, **37**, 385-390.
- 15 - WHITTLE H.C., GREENWOOD M., BIDWELL D.E., BARTLETT and VOLLER A. - IgM and antibody measurement in the diagnosis and management of gambian trypanosomiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1977, **26**, 1129-1134.

PERSPECTIVES

Cette étude a permis d'évaluer de nouveaux marqueurs potentiels de la phase neurologique de la THA :

- le degré d'altération de la barrière hémoméningée
- les anticorps antigalactocérebrosides du L.C.R.
- les immunoglobulines G et M spécifiques anti-trypanosome dirigées contre

les antigènes Litat 1-3, 1-5, 1-6.

Aucun des marqueurs possibles ne suffit à lui seul pour affirmer l'envahissement du SNC mais leur signification est au moins équivalente à celle de la cytorachie.

On peut actuellement envisager de traiter les patients par le mélarsoprol à partir d'une cytorachie à 20 cellules (Doua et al, 1994) plutôt qu'à 5 cellules mais les études sont contradictoires et des rechutes sont possibles à partir d'une cytorachie à 3 (Pépin et al, 1996).

Il paraît difficile d'admettre de traiter tous les sujets par une drogue toxique, mortelle dans 5% des cas. Cette attitude peut paraître rationnelle, mais sur le terrain, l'absence de signes cliniques objectifs empêche d'imposer au malade un traitement aussi lourd.

Cette étude identifie de nouveaux marqueurs mais nous ne savons rien concernant leur évolution au cours du temps. Il faudra poursuivre l'analyse des marqueurs conjointement à la cytorachie au cours d'une étude prospective pour confirmer leur valeur diagnostique.

BIBLIOGRAPHIE

AERST D., TRUC P., PENCHENIER L., CLAES Y. and LE RAY D. - A kit for in vitro isolation of trypanosomes in the field : first trial with sleeping sickness patients in the Congo Republic. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **86**, 394-395.

AMEVIGBE M., JAUBERTEAU-MARCHAN M.O., BOUTEILLE B., DOUA F., BRETON J.C., NICOLAS J.A. and DUMAS M. - Human African trypanosomiasis : presence of antibodies to galactocerebrosides *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **47**, 1992, 652-662

ANTHOONS J. A. M. S., VAN MARCK E. A. E. and GIGASE P. L. - Autoantibodies to intermediate filaments in experimental infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. *Z. Parasitenkd.*, 1986, **72**, 443-452.

ASONGANYI T., LANDO G. and NGU J.L. - Serum antibodies against human brain myelin proteins in Gambian Trypanosomiasis. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1989, **69**, 213-221.

AVILA J.L. and ROJAS M. - Elevated cerebroside antibody levels in human visceral and cutaneous leishmaniasis, *Trypanosoma rangeli* infection and chronic Chagas' disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1990, **43**, 52-60.

BACHI C.J. - Content, synthesis and function of Polyamines in Trypanosomatids : relationship to chemotherapy. *J. Protozool.*, 1981, **28**, 20-27.

BAJYANA SONGA E., HAMERS R., RICKMAN R., NANTULYA V.M., MULLA A.F. and MAGNUS E. - Evidence for widespread asymptomatic *Trypanosoma rhodesiense* human infection in the Luangwa Valley (Zambia). *Trop. Med. Parasitol.*, 1991, **42**, 389 -393.

BAILEY J.W. and SMITH DH. - The use of acridine orange QBC^R technique in the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, **86**, 630.

BENTIVOGLIO M., GRASSI-ZUCCONI G., PENG Z.C., BASSETTI A., EDLUND C. and KRISTENSON K. - Trypanosomes causes dysregulation of c-fos expression in the rat in suprachiasmatic nucleus. *NeuroReport* 1994, **5**, 712-714.

BENTIVOGLIO M., GRASSI-ZUCCONI G., T. OLSSON. and KRISTENSON K. - *Trypanosoma brucei* and the nervous system. *Trends Neurosc.*, 1994, **17**, 326-329.

BERNARDS A. -Antigenic variation of trypanosomes. *Biochim. Biophys. Acta* ,1984, **824**, 1-15.

BERTRAND Ed., SERIE F.,KONE I., RIVE J.,COMPAORE, SENTILHES L.et PHILIPPE J. - Symptomatologie générale de la trypanosomiase humaine africaine au moment du dépistage. *Médecine d'Afrique Noire*, 1973, **20**, 303-314.

BOA F.Y., TRAORE M.A., DOUA F., KOUASSI-TRAORE M.T. et

GIORDANO C. - Les différents aspects cliniques actuels de la THA à *T.b.g.* Analyse de 300 dossiers du foyer de Daloa, Côte d'Ivoire. *Bull. Soc. Path. Exo.*,1988, **81**, 427-444.

BONFANTI C., CARUSO A., BAKHIET M., OLSSON T., TURANO A. and KRISTENSSON K. -Increased Levels of Antibodies to IFN - γ in Human and Experimental African Trypanosomiasis. *Scand. J. Immunol.*, 1995, **41**, 49-52.

BOUTEILLE B., DARDE M.L., DUMAS M., CATANZANO G., PESTRE-ALEXANDRE M., BRETON J.C., NICOLAS A. and N'DO D.C. - The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. I. Clinical study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1988, **82**, 141-148.

BOUTEILLE B., DARDE M.L., MONTEIL J. et PESTRE-ALEXANDRE - Le complément : témoin d'infestation par *Trypanosoma brucei brucei* chez le mouton, modèle expérimental ; son évolution après traitement. Bull. Soc. Path. Ex., 1988, **81**, 522-529.

BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., CATANZANO G., BRETON J.C., NICOLAS A. and MUNOZ M.- The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model for African trypanosomiasis. II. Biological study. Ann. Trop. Med. Parasitol., 1988, **82**, 149-158.

BRANDENBERGER G., BUGUET A., MONTMAYEUR A., BOGUI P., MOUANGA G., DUMAS M. and SPIEGEL K. - Disruption of the 24 hour prolactin and renin rhythms in Human African Trypanosomiasis. Journal Sleep research, 1994, **3**, 32.

BRETON J.C. et DUMAS M. - Traitement de la THA-Place du DFMO in "Chimiothérapie des parasitoses" ed. Arnette Ed. Paris, 1990, p.69-78 .

BRETON J.C., JAUBERTEAU M.O., RIGAUD M., BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M. et DUMAS M. -Les acides gras de *T. b. brucei*.. Bull. Soc. Path. Ex., 1988, **81**, 632-636.

BRUN R. and JENNI L. - In vivo and in vitro production of *Trypanosoma b. gambiense*. In Proceeding of Symposium on the diagnosis of African Sleeping sickness due to *T. gambiense*. P.J. CROUY ed. 1983. Smith Kline RIT. Antwerp. p 33-35.

BUGUET A., BERT J., TAPIE Ph., BOGUI P., DOUA F., MOUANGA G., STANGHELLINI A., LONSDORFER J., TABARAUD F., MONTMAYEUR A., GATI R. and DUMAS M. - Disturbance of the circadian sleep-wake distribution in human african trypanosomiasis. Journal Sleep Research, 1994, **3**, 35

BÜSCHER P., DRAELANTS E., MAGNUS E., VERVOORT T. and VAN MEIRVENNE N. - An experimental latex agglutination test for antibody detection in human african trypanosomiasis. Ann. Soc. belge Méd. Trop., 1991, **71**, 267-273.

CATTAND P. Trypanosomose humaine africaine : situation épidémiologique actuelle, une recrudescence alarmante de la maladie. Bull. Soc. Path. Ex., 1994, **87**, 307-310.

CROSS A.M. - Cellular and genetic aspects of antigenic variation in trypanosomes. Annu. Rev. Immunol., 1990, **8**, 83-110.

DAVIS C.E. - Thrombocytopenia : a uniform complication of African trypanosomiasis. Acta Trop., 1982, **39**, 123-133.

DOUA F. et BOA YAPO F. -Actualités thérapeutiques de la trypanosomiase. Bull. Soc. Path. Ex., 1994, **87**, 337-340.

DUBOIS-DALCQ M., NIEDIECK B. and BUYSE M. - Action of anti-cerebroside sera on myelinated nervous tissue culture. Pathol. Eur., 1970, **5**, 331-347.

DUGAS B., MOSSALAYI M.D., DAMAIS C., KOLB J.P. - Nitric oxide production by human monocytes : evidence for a role of CD 23. Immunol. Today. 1995, **16**, 574-580.

DUKES P., GIBSON W.C., GASHUMBA J.K., HUDSON K.M., BROMIDGE T.J., KAUKUS A., ASONGANYI T. and MAGNUS E. - Absence of the LiTat 1.3 (CATT antigen) in *Trypanosoma brucei gambiense* stocks from Cameroon . Acta Trop., 1992, **51**, 123-124.

DUMAS M. and BOA Y. -Human African Trypanosomiasis. In Handbook of Clinical Neurology, revised Series, 1988, **8**, 339 -344. VINKEN P.J., BRUYN G.W. & KLAWANS H.L. ed. Elsevier Sciences Publishers. Amsterdam.

DUMAS M. - Trypanosomiase humaine africaine. La Lettre de l'Infectiologie, 1991, **6**, 250-251.

DUMAS M. - Human African Trypanosomiasis. In "Tropical Neurology", SHAKIR R.A., NEWMAN P.K., POSER C.M. Editors, Bailliere Tindal Division of W.B. Saunders Company Limited, 1995, 1vol.,485p., 275-286.

FAIRLAMB A. - Novel approaches to the chemotherapy of trypanosomiasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, **84**, 613-617.

F.A.O. - Manuel de lutte contre la mouche Tsé-Tsé. 1982, Vol1.

FATEH-MOGHADAM A. - Logiciel d'aide à l'interprétation du bilan protéique du LCR. Version 1.3, 1990, Copyright Behringwerke AG.

FRY J.M., WEISSBATH S., LEHRER G.M. and BORNSTEIN M.B. - Cerebroside antibody inhibits sulfatide synthesis and myelination and demyelinate in cord tissue cultures. Science, 1974, **183**, 540-542.

GENTILINI M. et DUFLO B. - Trypanosomiasis humaines . In " Médecine tropicale " Ed Flammarion Médecine Sciences ; 1986, 108-120.

GIBSON W - Identification of trypanosomes by animals, humans and glossina. Bull. Soc. Path. Ex., 1994, **87**, 315 - 318.

GREENWOOD B.M. and WHITTLE H.C. - Cerebrospinal fluid IgM in patients with sleeping sickness. Lancet, 1973, **2**, 525-527.

GREENWOOD B.M. and WHITTLE H.C. - The pathogenesis of sleeping sickness.-Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, **74**, 716-725.

HENDERSON G.B. and FAIRLAMB A.H. - Trypanothione metabolism : a chemotherapeutic target in Trypanosomatids. Parasitol. Today, 1987, **3**, 312-315.

HERBERT W.J. and LUMSDEN W.H.R. - *Trypanosoma brucei* : a rapid "matching" method for estimating the host's parasitemia. Experimental Parasitology, **40**, 427-431.

HIDE G., TAIT A., MAUDLIN I. and WELBURN S.C. - The origins, dynamics and generation of *Trypanosoma brucei rhodesiense* Epidemics in East Africa. Parasitol. Today, 1996, **12**, 2, 50-55.

HOARE C.A. - The trypanosomes of mammals. Blackwell Scientific Publication, 1972, Oxford and Edinburg.

HUET G., LEMESRE J.L., GRARD G., NOIREAU F., BOUTIGNON F., DIEU M.C., JANNIN J. and DEGAND P.- Serum lipid and lipoprotein abnormalities in H.A.T. Bull. Soc. Path. Ex., 1990, **84**, 792-799.

HUNTER C. A. and KENNEDY P.G.E. Immunopathology in central nervous system human African trypanosomiasis. J. Neuroimmunol., 1992, **36**, 91-95.

HUNTER C. A., JENNINGS F. W., TIERNEY J. F., MURRAY M. and KENNEDY P.G.E. Correlation of autoantibody titres with central nervous system pathology in experimental African trypanosomiasis. J. Neuroimmunol., 1992, **41**, 143-148.

ITAZI O.K. - Radial immunodiffusion as a diagnostic test for african human trypanosomiasis in cases with neurological involvement. International Scientific Council for Trypanosomiasis Research and Control, 1981, XVIIth Meeting, publication N° 112.

JANNIN J., MOULIA-PELAT J.P., CHANFREAU B., PENCHENIER L., LOUIS J.P., NZABA P., ELFASSI DE LA BAUME, EOZENOU P. et CATTAND P. - THA : étude d'un score de présomption de diagnostic au Congo. Bull. OMS, 1993, **71**, 215-222.

JANNIN J., PENCHENIER L., EOZENOU, VENTROU P., MIALEBAMA J., LOUYA F., BOBENDA T., SAMBA F. et CODDY ZITSMALÉ - Recrudescence actuelle de la THA dans le foyer de la Sangha (Cuvette) au Congo. Bull. Soc. Path. Ex., 1992, **85**, 31-38.

JAUBERTEAU M. O., BEN YOUNES- CHENOUEFI A., AMEVIGBE M., BOUTEILLE B., DUMAS M., BRETON J.C. and BAUMANN N. - Galactocerebrosides are antigens for immunoglobulins in sera of an experimental model of trypanosomiasis in sheep. J. Neurol. Sci., 1991, **101**, 82-86.

JAUBERTEAU M.O., COOK J.M., DROUET M. and PREUD'HOMME J.L. - Affinity immunoblotting detection of serum monoclonal immunoglobulins reactive with glycosphingolipids. J. Immunol. Methods, 1990, **134**, 107-112.

JOYEUX CH. et SICE A. - Précis de médecine des pays chauds, Masson et cie ed., 4è ed., 1950, 1070p., p 855.

KAZYUMBA G., BERNEY M., BRIGHOUSE G., CRUCHAUD A. and LAMBERT H. - Expression of B cell repertoire and autoantibodies in human African trypanosomiasis. Clin. exp. Immunol, 1986, **65**, 10-18.

KOBAYAKAWA T., LOUIS J., SHOZO I. and LAMBERT P.H. - Autoimmune response to DNA, red cells, and thymocyte antigens in association with polyclonal antibody synthesis during experimental African Trypanosomiasis. *J. Immunol.*, 1979, **122**, 296- 301.

KUZOE F.- Trypanosomiase africaine. Progrès de la recherche 1991-92. XI^e rapport du programme.OMS Genève, 1993.

KUZOE F - Current situation of African trypanosomiasis. *Acta Trop.*, 1993, **54**, 153-162.

LAMBERT P.H. , BERNEY M. and KAZYUMBA G. - Immune Complexes in serum and in cerebrospinal Fluid in African Trypanosomiasis. *J. Clin. Invest.*, 1981, **67**, 77-85.

LANHAM S.M., WILLIAM J.E. and GODFREY D.G. - Detection of low concentration of trypanosomes in blood by column separation and membran filtration. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1972, **66**, 624-627 .

LAPEYSSONIE L. - Deuxième note concernant 1 cas exceptionnel de trypanosomiase. Parasitémie observée depuis 21 ans sans signes cliniques appréciables chez une malade traitée inefficacement pendant les dix premières années. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1960, **53**, 28.

LAVEISSIERE C. - Les glossines. Guide de formation et d'information. OMS, 1988, ser. lutte antivectorielle, Division BVL.

LEMESRE J.L., NOIREAU F., MAKOUNDOU M.L., LOUEMBE M.T. et FREZIL J.L. - Apport des techniques sérologiques dans l'analyse du liquide céphalo-rachidien de patients congolais atteints de la maladie du sommeil. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1988, **81**, 506-510.

LUCAS R., MAGEZ S., BAJYANA S., DARJI A. HAMERS R. and BAETSELIER P. - A role for TNF during African trypanosomiasis : involvement in parasite control, immunosuppression and pathology. *Res. Immunol.*, 1993, **144** , 370-376.

LUMSDEN W.H.R., KIMBER C.D., DUKES P., HALLER L., STANGHELLINI A. and DUVALLET G. - Field diagnosis of sleeping sickness in Ivory Coast. I .Comparison of the miniature anion-exchange centrifugation technique with other protozoological methods. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, **75**, 242-250.

MAGNUS E., VERVOORT T. and VAN MEIRVENNE N.- A card agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for serological diagnosis of *T. b. gambiense*. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1978, **58**, 169-176.

MANSFIELD J.M. -T- cell responses to the Trypanosome. Variant surface glycoprotein : a new paradigm ?. *Parasitol. Today*, 1994, **10**; 267-270.

MARIE-DARAGON A., ROUILLARD M.C., BOUTEILLE B., BISSER S., DE ALBUQUERQUE C., CHAUVIERE G., PERIE J et DUMAS M. - Essais d'efficacité sur *Trypanosoma brucei brucei* de molécules franchissant la barrière hémato-méningée et du mégazol. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1994, **87**, 34 7-352.

MARTIN, LEBOEUF et ROUBAUD - Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français, 1906-1908, Masson et Cie, Edit., Paris, 1 vol., 1909,708p.

MATTERN P. - Etat actuel et résultats des techniques immunologiques utilisées à l'Institut Pasteur de Dakar pour le diagnostic et l'étude de la trypanosomiase humaine. *Bull. OMS.*, 1968, **38**, 1- 8.

MC KENZIE A.R. and BOREHAM P. F. L. - Autoimmunity in Trypanosome infections. I. tissue autoantibodies in *Trypanosoma brucei* infections of the rabbit. Immunology, 1974, **26**, 1225-1238.

MOLYNEUX D.H.- African Trypanosomiasis. Clin. Trop. Med. Commun. Dis., 1986, **1**, 535-555.

MOLYNEUX D.H, PENTREATH V.and DOUA F. Manson's Tropical diseases, 1996, 20th ed. Gordon C Cook Ed. 1171-1196.

MULLIGAN M.N.- The African Trypanosomiasis. G. Allen and Unwin ed.London 1970.

NANTULYA V.M., DOUA F. and MOLISHO S.- Diagnosis of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness using an antigen detection enzyme linked immunosorbent assay. Trans.Roy.Soc.Trop.Med.Hyg., 1992, **86**, 42-45.

NEUJEAN G. - Contributions à l'étude des liquides rachidiens et céphaliques dans la maladie du sommeil à "*Trypanosoma gambiense*". Ann.Soc. Belge Méd. Trop.,1950, **30**, 1225-1236.

NGAMPO S. - Quels sont les critères et les résultats d'efficacité et de létalité du traitement des cas résistants ? L'expérience Congolaise. In " Rapport final du séminaire de modélisation appliquée pour l'optimisation des prises de décision et du suivi des programmes de contrôle de la maladie du sommeil. Daloa (Côte d'Ivoire)" Habbema et De Muynck, eds. 22-30 oct. 1991 p 91-95.

NOZAIS J.P. - Mais où est donc passée la " clé " de Kérandel ? Bull. Soc. Path. Ex., 1988, **81**, 477-479.

OKOMO-ASSOUMOU M.C., DAULOUEDE S., LEMESRE J.L., N' ZILA-MOUANDA A. and VINCENDEAU P. -Correlation of high serum levels of tumor necrosis factor- α with

disease severity in human african trypanosomiasis. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1995, **53**, 539-543.

ORMEROD W.E. and VENKATESAN S. - An amastigote phase of the sleeping sickness trypanosome. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1971, **65**, 736-741.

OMS.- Manuel de lutte contre la Trypanosomiase, 1983.

OMS - Maladies tropicales. Progrès de la recherche 89-90. Xè rapport du programme.

OZAWA K., SAIDA T., NISHITANI H. and KAMEYAMA M. *In vivo* CNS demyelination mediated by anti-galactocerebroside antibody. Acta Neuropathol. (Berlin), 1989, **77**, 621-628.

PENTREATH V.W., OWOLABI O.A. and DOUA F. - Survival of *Trypanosoma brucei* brucei in cerebrospinal fluid. Ann. Trop. Med. and Parasitol., 1992, **86**, 29-34.

PENTREATH V.W., REES K., OWOLABI O.A., PHILIP K.A. and DOUA F. - The somnogenic T lymphocyte suppressor prostaglandin D₂ is selectively elevated in cerebrospinal fluid of advanced sleeping sickness patients. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1990, **84**, 795-799.

PENTREATH V.W. - Trypanosomiasis and the nervous system. Pathology and immunology. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1995, **89**, 9-15.

PEPIN J. and KHONDE N. - Relapses following treatment of early-stage *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness with a combination of pentamidine and suramin. Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1996, **90**, 183-186.

PERIE J., DE ALBUQUERQUE C., BLONSKI C., CHAUVIERE G., GEFFLAUT T., PAGE P., TRINQUIER M. et WILLSON M. - Conception rationnelle et étude de molécules actives contre les différentes trypanosomiasés. Bull.Soc.Path.Ex., **87**, 1994, 353-361.

PETRY K. and EISEN H. Chagas' disease: a model for the study autoimmune diseases. Parasitol. Today, 1989, **5**, 11-116.

POLTERA A.A. , HOCHMANN A. and LAMBERT P.H. *T. b. gambiense* : cerebral immunopathology in mice. Acta Trop., 1982, **39**, 205-218.

POLTERA A.A. , HOCHMANN A., RUDIN W. and LAMBERT P.H. *Trypanosoma brucei brucei*: a model for cerebral trypanosomiasis in mice, an immunological, histological and electromicroscopic study. Clin. Exp. Immunol., 1980, **40**, 496-507

POLTERA A.A. - Immunopathological and chemotherapeutic studies in experimental trypanosomiasis with special reference to the heart and brain. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 1980, **74**, 706-715.

RASEROKA B.H. and ORMEROD W.E. - Protection of the sleeping sickness trypanosome from chemotherapy by different parts of the brain. East Afr. Med. J. , 1985, **62**, 452-458.

RADOMSKI M., BUGUET A., MONTMAYEUR A., BOGUI P., BOURDON L., DOUA F., LONSDORFER A., TAPIE Ph. and DUMAS M. - Twenty - four hour plasma cortisol and prolactin in human african trypanosomiasis patients and healthy african controls. Am. J. Trop. Med. Hyg. , 1995, **52**, 281-286.

RAINE C.S., JONHSON A.B., MARCUS D.M., SUZUKI A. and BORNSTEIN M.B. Demyelination *in vitro* - Absorption studies demonstrate that galactocerebroside is a major target. J. Neurol. Sci., 1981, **52**, 117-131.

- REIBER H. - The discrimination between different Blood/CSF Barrier dysfunctions and inflammatory reactions of the CNS by a recent evaluation graph for the protein profile of cerebrospinal fluid. *J. Neurol.*, 1980, **224**, 89-99.
- RICKMAN LR - The blood incubation infectivity test : a sample test which may serve to distinguish *Trypanosoma brucei* from *T. rhodesiense*. *Bull. OMS*, 1970, **42**, 650.
- ROFFI J., DEDET J.P. et GARRE M.T. - Diagnostic immunoenzymatique de la Trypanosomiase en phase nerveuse par mise en évidence d'anticorps spécifiques dans le liquide céphalorachidien. *Med. Mal. Inf.*, 1979, **9**, 306-312.
- ROGERS D.J. and RANDOLPH S.E. -Mortality rates and population density of tsetse flies correlated with satellite imagery. *Nature*, 1991, **351**,739-741.
- SEED J.R., SECHELSKI J. and HALL J.E. - Further biochemical characterization of chronic *Trypanosoma brucei gambiense* - *Microtus montanus* infection. *Am. J.Trop.Med.Hyg.*, 1987, **37**, 314-9.
- SMITH D.H., BAILEY J.W. and WELDE B.T. - Immunodiagnostic tests on cerebrospinal fluid in the diagnosis of meningoencephalitic *Trypanosoma brucei rhodesiense* infection. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1989, **83**, suppl.1,91-97.
- STERNBERG J., MABBOTT N., SUTHERLAND I. and LIEW F.Y.- Inhibition of Nitric Oxide Synthesis leads to reduced parasitemia in Murine *Trypanosoma brucei* Infection. *Infect. Immun.*, 1994, **62**, 2135-2137.
- TIBBLING G., LINK H. and OHMAN S. - Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders *I.Scand.J.Clin.Lab.Invest.*,1977, **37**, 385-390.

VAN MEIRVENNE N., MAGNUS E. and BUSCHER P.- Evaluation of variant specific trypanolysis tests for serodiagnosis of human infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. Acta Trop., 1995, **60**, 189-199.

VICKERMAN K. - Developmental cycles and biology of pathogenic trypanosomes. Brit. Med. Bull., 1985, **41**, 105-114.

VINCENDEAU P., DAULOUEDE S., VEYRET B., DARDE M.L., BOUTEILLE B. and LEMESRE J.L. - Nitric oxide-mediated cytostatic activity on *Trypanosoma brucei gambiense* and *Trypanosoma brucei brucei*. Exp. Parasitol., 1992, **75**, 353-360.

WAITUMBI J.N., SAYER P.D. and GOULD S.S. - Evidence of blood cerebrospinal fluid barrier impairment in *T.b. rhodesiense* infection in vervet Monkey. Bull. Soc. Path. Ex., 1988, **81**, 502-505.

WERY M. MULUMBA P.M., LAMBERT P.H. and KAZYUMBA L. - Hematologic manifestations, diagnosis, and immunopathology of African Trypanosomiasis. Seminars Hematol. , 1982, **19**, 83 - 92.

WERY M., WERY-PASKOFF S. and VAN WETTERE P. - The diagnosis of human African trypanosomiasis (*T.gambiense*) by the use of the fluorescent antibody test (I). Ann.Soc.Belge Méd.Trop.,1970, **50**, 613- 634.

WERY M., WERY-PASKOFF S., VAN WETTERE P., VAN MEIRVENNE N. and MESATEWA M. - The diagnosis of human African trypanosomiasis(*T.gambiense*) by the use of the fluorescent antibody test (II).Ann.Soc.Belge Méd.Trop.,1970, **50**, 711- 730.

WHITTLE H.C., GREENWOOD M., BIDWELL D.E., BARTLETT and VOLLER A. - IgM and antibody measurement in the diagnosis and management of gambian trypanosomiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1977, **26**, 1129-1134.

VINCENDEAU P., DAULOUEDE S., VEYRET B., DARDE M.L., BOUTEILLE B. and LEMESRE J.L. - Nitric oxide-mediated cytostatic activity on *Trypanosoma brucei gambiense* and *trypanosoma brucei brucei*. *Exp. Parasitol.*, 1992, **75**, 353-360.

WOLGA J.I., RIBEIRO C.D., GAILLAT J.P., STAHL J.P., MICOUD M. et GENTILINI M. Autoanticorps dans les trypanosomiasés humaines africaines (Anticorps anti-muscle lisse au cours d'une maladie à *Trypanosoma gambiense*). *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1981, **74**, 676-684.

WOO P.T.K. - The haematocrite centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Acta Trop.*, 1970, **27**, 384-386.

ANNEXE

Adresse _____

Nom du centre _____ <idnum> <dd/mm/yy> Code _____

ETAT CIVIL

Nom _____ Prénom _____

Sexe # Age ## Statut familial #

Nombre d'enfants ##

Nationalité _____ Profession #

Origine _____ Orig. geo. #

Statut # Niveau de vie #

ANTECEDENTS MEDICAUX

Dysenterie # Diarrhee # Tuberculose # Autres aff. pulm. #

Épilepsie # Convulsions # Coma # Deficit moteur # Mts anormaux #

Sensitifs # Paralyse nerfs craniens # Tbles cpts #

Menstruation # Amenorhee # Parite ## Avortement #

Maladies genit. avec THA # Conjoint avec THA # Collateraux avec THA #

Maladies héréditaires avec THA #

HISTOIRE DE LA MALADIE

Début # Mode d'installation #

Signes cutanés # Prurit cutané # Eruption cutanée # Fièvre #

Signes généraux # Asthénie # Hypersudation # Vertiges # Myalgies #

Myalgies # Insomnie nocturne # Somnolence diurne # Nausées #

Troubles de l'alimentation # anorexie # hyperphagie # AEG # trouble du comportement #

AMEN CLINIQUE

. # adp # smg # hmg # signes cutanes # amaigrissement #

me # lesions # aspect peau # conjonctives # chevelure # thyroide #

testicules # uterus # seins # cycle # rythme # frequence

tad # auscultation coeur # auscultation pul. # s.habituel

es signes cv # pp # endoc # dermat # hepa # mixte # autres #

AMEN NEURO

cience # Sommeil # comportement # humeur # Instinct alim. #

sex.

icite debout # marche # MSD # MSG # MID # MIG #

ndination MSD # MSG # MID # MIG #

anormaux # Loca MSD # MSG # MID # MIG # face # tete et cou #

: # diffus # type # circ.app. #

s MSD # MSG # MID # MIG #

kes RA POMD # POMG # PAMD # PAMG # PER # RT CD # CG # NP # VP #

BICD # BICG # TRICD # TRICG # ROTULD # ROTULG # ACHILD # ACHILG #

CPG

bilite subjective # hyperpathie # objective PIQUIRE FACED # FACEG #

MSG # TROND # TRONG # MID # MIG # DIAPASON MSD # MSG # MID

ROMBERG

S CRANIENS 1. AVD # AVG # CVD # CVG # FOD # FOG # 3. PUPD # PUPG #

D # PHOTG # SED # SEG # 4. PTOD # PTOG # SID # SIG # PFPD # PFPG #

NEURO # CCL GEN sd inf # sd card # autre # neuropsy # neuroperi #

AMENS COMPLEMENTAIRES

general N% ## EO% ## B% ## L% ## M% ## HTC ##

ste existe-il ? <Y>

A ### K ## CL ### CA ## chol ## tg ## prot ##.

gly ## uree ## creat ###.# ac.urique ###.# tgo ### tgp ### ldh ###

t### fer ##

ogie HIV-1 # HIV-2 # Syphilis # HTLV-1 #

tes Suc gg # WOO # LCR #

CATT sg # CATT serum # IgM sg # IgM LCR

ophorese prot. # Elements LCR # Prot LCR # Sucres LCR #

re de cellules dans le LCR ###

de la maladie P#

ement

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

PARTIE I : LA THA

pages

I Epidémiologie	20
1 Répartition géographique.....	20
2 Agents pathogènes	23
2 1 Taxonomie	23
2 2 Morphologie	25
2 2 1 Morphologie chez l'hôte vertébré	25
2 2 2 Morphologie chez le vecteur	25
2 3 1 Cycle chez le vertébré (homme)	27
2 3 2 Cycle chez le vecteur	27
2 4 Particularités du métabolisme	31
2 4 1 Les glycoprotéines de surface et la variation antigénique	31
2 4 2 Biosynthèse des acides nucléiques du parasite.....	32
2 4 3 Métabolisme glucidique.....	32
2 4 4 Métabolisme protidique.....	32
2 4 5 Métabolisme lipidique.....	33
3 Le vecteur	33
3 1 Taxonomie et répartition géographique (Tableau II).....	33
3 2 Morphologie	35
3 3 Biologie et lutte antivectorielle.....	36
4 Les réservoirs animaux	38
4 1 T. b. gambiense.....	38
4 2 T. b. rhodesiense	38
II Physiopathologie de la maladie	39
1 Les manifestations biologiques observées chez l'homme.....	39
2 Les mécanismes évoqués	40
2 1 Manifestations immunologiques	40
2 2 Les manifestations neuro-endocrines	44
2 2 1 Envahissement des régions périventriculaires.....	44
2 2 2 HLA 1	44
2 2 3 Modifications des rythmes veille-sommeil	45
2 2 4 Modification de l'horloge biologique	45
2 3 Les substances toxiques produites par le trypanosome.....	46
III Signes cliniques et symptômes de la maladie	47
1 Le trypanome.....	47
2 La phase lymphaticosanguine.....	47
3 La phase de polarisation cérébrale	48
4 Phase terminale	49

IV Diagnostic biologique de la maladie	49
1 Détection du parasite dans les liquides biologiques.....	49
1 1 Examen du chancre d'inoculation	49
1 2 Examen d'une ponction ganglionnaire	49
1 3 Examen du sang	49
1 4 Examen de la moelle osseuse	51
1 5 Examen du liquide céphalorachidien	51
1 6 Culture à partir des produits biologiques.....	52
1 7 Inoculation aux rongeurs	52
1 8 Xénodiagnostic	52
1 9 Détection d'antigènes.....	53
1 10 Détection d'acides nucléiques.....	53
2 Diagnostic biologique indirect.....	53
2 1 Modifications hématologique.....	53
2 2 Modifications du LCR.....	54
2 2 1 Les cellules inflammatoires	54
2 2 2 La protéinorachie	54
2 2 3 Les IgM du LCR	55
3 Diagnostic indirect ou de présomption	55
3 1 Détection des anticorps.....	55
3 2 Immunofluorescence Indirecte (IFI).....	56
3 3 Agglutination sur carte(CATT).....	56
3 4 Hémagglutination indirecte	56
3 5 Test d'agglutination au Latex	57
3 6 L'ELISA.....	57
V Thérapeutique actuelle et orientation des recherches	58
1 Les molécules actives à la phase lymphatico sanguine.....	58
1 1 La suramine (Moranyl R, Spécia).....	58
1 2 La pentamidine (Pentamidine R, Roger Bellon).....	59
2 Les molécules actives à la phase nerveuse	59
2 1 Le mélarsoprol (Arsobal R, Spécia)	59
3 Les thérapeutiques à l'essai et leurs limites.....	60
3 2 Le nifurtimox (Lampit R)	61
3 3 Les voies de recherche	61

PARTIE II : TRAVAUX PERSONNELS

CADRE DE L'ETUDE

I Historique de la situation de la THA au Congo.....	67
II Nombre de cas et principaux foyers	68
III Enquête sur le terrain	71
1 Questionnaire utilisé durant l'enquête (cf annexe).....	71
2 Le Programme National de Lutte contre la THA (PNLTHA) à Brazzaville	71
3 Déroulement de l'enquête	79

APPORT DES EXAMENS BIOCHIMIQUES DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE DE LA THA.	83
QUELLE PLACE POUR LES ANTICORPS ANTI-GALC DANS LE DIAGNOSTIC DE LA PHASE NERVEUSE ?.....	105
ANALYSE MULTIVARIÉE APPLIQUEE À L'ETUDE DES STADES DE LA TRYPANOSOMOSE HUMAINE AFRICAINE	121
PERSPECTIVES	141
BIBLIOGRAPHIE	143
ANNEXE	159

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je dispenserai mes soins sans distinction de race, de religion, d'idéologie ou de situation sociale.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser les crimes.

Je serai reconnaissant envers mes maîtres, et solidaire moralement de mes confrères. Conscient de mes responsabilités envers les patients, je continuerai à perfectionner mon savoir.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir de l'estime des hommes et de mes condisciples, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

BON A IMPRIMER N° 40

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ

RESUME :

La trypanosomose humaine africaine (THA) est due à l'infection de l'homme par un protozoaire flagellé transmis par la piqure d'une mouche tsé-tsé appartenant au genre *Glossina*. En Afrique de l'Ouest et Centrale, *Trypanosoma brucei gambiense* détermine une forme d'évolution chronique, la maladie du sommeil. En Afrique de l'Est, *T.b. rhodesiense* provoque une affection aiguë. La maladie évolue en 2 stades : une phase lymphaticosanguine de généralisation de l'infection et une phase de polarisation nerveuse évoluant vers une démyélinisation et la mort en l'absence de traitement. Il n'y a pas de passage net d'un stade à l'autre. Le diagnostic précoce de la phase nerveuse basé sur la cytorachie supérieur à 5 éléments est difficile et pose un problème délicat de thérapeutique : le mëlarsoprol seul médicament actif à tous les stades, provoque une encéphalopathie mortelle chez 5 à 10 % des sujets traités.

Une étude réalisée au Congo lors de campagnes de dépistage de la THA a permis d'établir un profil clinique et biologique de sujets malades afin de préciser le moment de l'envahissement nerveux. Les résultats obtenus ont été comparés à ceux d'une population de sujets témoins dans la même région. Nous avons pu établir l'importance de l'étude de la barrière hémoméningée et proposer une augmentation du seuil de la cytorachie et la corrélation avec les signes neurologiques de la présence d'anticorps antigalactocérobroside. Les 26 critères étudiés dans un modèle d'analyse multivariée ne sont pas assez discriminants pour définir le début de l'atteinte nerveuse.

MOTS CLES :

- Trypanosomose humaine africaine : diagnostic.
- Congo.
- barrière hémoméningée.
- anticorps antigalactocérobroside.
- anticorps antitrypanosome.
- analyse multivariée.