

CONCLUSIONS AU COLLOQUE INTERNATIONAL SUR LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE AFRICAINE

M. WERY

*Laboratoire de Protozoologie
Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold
Nationaalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique*

En guise d'introduction, le Professeur Janssens nous a rappelé que peu de progrès avaient été réalisés au cours des quatre dernières décennies, aussi bien dans le domaine du traitement de la maladie du sommeil que dans d'autres aspects comme la description précise des lésions anatomo-pathologiques ou les modalités du diagnostic sur le terrain. Comme la recherche de médicaments nouveaux n'est pas payante, elle n'intéresse pas les laboratoires pharmaceutiques, et des laboratoires universitaires devraient recevoir les moyens de combler cette lacune.

Il a cependant terminé sur une note optimiste en constatant l'éveil de l'intérêt des autorités administratives des pays concernés et des laboratoires de recherche sous l'impulsion de l'O. M. S.

Les descriptions cliniques qui ont été faites par les Drs Buyst et Antoine ainsi que la remarquable synthèse, faite par le Professeur Giordano, du syndrome neurologique nous ont permis de retenir les faits suivants : le diagnostic est plus souvent manqué chez l'enfant que chez l'adulte, les œdèmes et les tremblements sont des symptômes peu fréquents et l'examen du liquide céphalo-rachidien a peu de valeur diagnostique. Par contre, l'incidence de la maladie chez l'enfant mérite d'être étudiée séparément, elle a une signification épidémiologique particulière. Il est frappant de constater que l'administration, préalablement au traitement trypanocide, d'antimalariens et surtout de proguanil permet de réduire de manière importante la mortalité au cours du traitement.

Les symptômes neurologiques les plus fréquents sont l'altération de la vigilance, la persistance des réflexes archaïques et l'hypertonie extra pyramidale. Ils sont causés par des lésions organiques situées au niveau du plancher du troisième ventricule et de l'hypothalamus.

L'état général des malades est très mauvais dans 50 p. cent des cas. Quant aux altérations du liquide céphalo-rachidien, le professeur Giordano a insisté sur les modifications qualitatives des gamma globulines. Il a signalé qu'une augmentation diffuse de la zone gamma serait un signe de début d'évolution, alors que les atteintes tardives seraient caractérisées

par des élévations de bandes gamma bien déterminées (élévation oligoclonales).

Il y a toujours de grandes difficultés à distinguer dans l'encéphalopathie arsénicale, une origine toxique ou au contraire une réaction d'Herxheimer.

L'étude physiopathologique des lésions de la maladie du sommeil est en bonne voie : l'analyse des immuns complexes circulants a permis à l'équipe de chercheurs de Lille d'y retrouver et l'antigène VI et l'anticorps anti-VI grâce aux radio-immuno-précipitations en polyéthylène glycol (RIPEGA) et mesure subséquente de la radioactivité du précipité dans lequel était retrouvé l'I 135 incorporé dans les constituants des complexes.

Rassurés sur la nature spécifique de ces précipités, nous pouvons donc prendre en considération ceux qui sont régulièrement retrouvés dans les tissus ou dans la circulation des animaux infectés et qui ont été mis en évidence par le Professeur Lambert. Grâce à la démonstration de complexes immuns dans les muscles striés périphériques, il a pu prouver que les lésions inflammatoires et dégénératives observées dans ces muscles n'étaient pas dues à des toxines de trypanosomes. En effet, les animaux incapables de réagir immunologiquement ne présentent pas ces lésions malgré la présence de grandes quantités de parasites. Les mises en action des immunités humorale et cellulaire sont donc nécessaires au développement de ces lésions.

A ce moment, le Dr Boreham prend le relais, en analysant les effets généraux de ces complexes dans l'organisme. Ils activent le facteur Hageman de la coagulation, transforment la prékallikréine en kallikréine qui, à son tour, transforme la globuline alpha 2 kininogène en kinine.

La kinine dérègle la balance du sodium, cause l'hypotension, augmente la fragilité capillaire, attire les leucocytes, libère des catécholamines, l'histamine et les prostaglandines (qui sont des médiateurs de l'inflammation), modifie la coagulabilité du sang et active le complément ainsi que le plasminogène.

En effet, dans les infections expérimentales à trypanosomes, les kinines sont libérées, on les retrouve dans le sang et les urines. De la kallikréine plasmatique a été retrouvée dans les infections expérimentales à *T. brucei* chez le lapin. Cette hormone est inhibée par l'aprotinine.

Une mention spéciale est faite de l'hypotension provoquée par l'injection expérimentale de complexes Ag-Ac. Cette hypotension est réversible (et même peut être prévenue) par injection de l'aprotinine. Elle serait donc provoquée par la kallikréine.

Quant à l'anémie de la phase aiguë de la trypanosomiase, elle serait due à des effets toxiques directs du trypanosome.

Les méthodes de diagnostic sérologique sont énumérées par le Dr Volter : il y en a une liste impressionnante. On se dirige actuellement vers l'utilisation d'antigènes solubles déposés à la surface de globules rouges tannés (hémagglutination), ou à la surface de godets et de tubes de plastique (ELISA). Ceci permet de penser à affiner les réactions en se servant d'antigènes mieux définis : au lieu d'utiliser ce que les spécialistes appel-

lent dans leur jargon « la soupe » antigénique, de plutôt faire appel à des antigènes isolés, comme par exemple des fractions antigéniques de la surface.

De plus, certaines réactions sont modifiées techniquement de manière à pouvoir être utilisées sur le terrain, comme l'hémagglutination en tubes capillaires, tandis que le test ELISA est automatisé de manière à pouvoir faire des centaines de réactions sans intervention humaine dans les manipulations ni la lecture. Le Dr Van Knapen en fait une démonstration convaincante.

Cependant, l'antigène figuré ne perd pas ses droits, le conjugué fluorescent est peut être amené à être remplacé par les conjugués à la peroxydase, ce qui supprime l'obligation de disposer d'un microscope à lumière ultraviolette, mais rend l'interprétation plus délicate.

La dernière acquisition en matière de diagnostic immunologique est la recherche de l'antigène dans le sérum par « *radioimmunoassay* » et « *enzyme immuno assay* ». Ces réactions, recherchant les constituants parasitaires eux-mêmes seraient irréprochables quant à leur spécificité. Ils font appel à des anticorps spécifiques préparés chez des animaux dans des conditions expérimentales.

Le Dr Steinert insiste, à juste titre, sur l'importance des renseignements qui peuvent être fournis par l'analyse de l'acide désoxyribonucléique dans les déterminations taxonomiques aux niveaux spécifique et sous-spécifique qui, de jour en jour, deviennent plus utiles pour les épidémiologistes.

L'analyse séquentielle totale des nucléotides constitutifs n'est pas utilisable, mais on peut obtenir des résultats très satisfaisants par des techniques plus simples comme la dénaturation par élévation progressive de la température d'une solution de l'ADN qui provoque la séparation des paires de bases à des endroits bien déterminés, plus fragiles. Il décrit également l'action des enzymes de restriction, qui coupent les molécules d'ADN en des fragments de longueur constante. La longueur respective des morceaux est caractéristique d'une espèce ou sous-espèce de trypanosomes.

L'hybridisation moléculaire *in situ* de l'ARN fabriqué au contact de l'ADN kinétoplastique avec un ARN de référence n'est possible que s'il y a identité de structure. On peut ainsi, indirectement, connaître la structure précise de l'ADN kinétoplastique à condition de disposer d'ARN de structure définie.

Le Dr Ruppel nous a dépeint la situation de la trypanosomiase au Zaïre. Il a insisté sur les difficultés rencontrées actuellement par les équipes mobiles qui, par un travail patient et difficile, ont amené l'endémie catastrophique des années 67-70 à un stade d'endiguement. Il a fait l'analyse de l'action des équipes mobiles, en les opposant à celle des formations fixes dont le Dr Mercenier a essayé de prévoir les potentialités théoriques pour le dépistage de la maladie du sommeil dans l'hypothèse de fonctionnement idéal des centres de santé.

Il semble naturel de penser que lorsque chaque village des zones d'endémie possédera son centre de santé, pourvu d'un personnel bien au courant des modes de diagnostic, le rôle des équipes mobiles se

bornera à des actions de « sauvetage » en cas de déclenchement d'épidémies toujours possibles. En attendant cette époque encore lointaine, les équipes actuellement mises en place par le Bureau Central de la Trypanosomiase pour faire face à la situation de l'endémie au Zaïre restent irremplaçables et doivent continuer leur activité sans désespérer. Ceci ne devrait pas empêcher que des études comme celles du Dr Mercenier soient réalisées, ou que des tentatives d'amélioration des méthodes de diagnostic soient effectuées au sein même de certaines équipes mobiles, particulièrement là où elles ont réussi par les moyens classiques à réduire l'endémie à un niveau résiduel.

Le Dr Frézil nous a vanté les mérites de la technique d'immunofluorescence indirecte qui lui procure de grandes satisfactions. L'excellente spécificité de la réaction l'autorise à mettre en traitement tous les suspects sérologiques sans mise en évidence préalable du parasite, surtout dans les régions difficiles d'accès. Il rappelle également l'importance des enquêtes familiales ou réalisées dans l'entourage plus large des malades diagnostiqués qui permettent souvent le dépistage de sujets infectés.

Le Dr Lafaye met en équations les différents résultats obtenus avec plusieurs réactions sérologiques. Des tests statistiques permettent à cet auteur d'évaluer de manière plus précise la reproductibilité d'une réaction et d'en déterminer le seuil de spécificité. La combinaison des résultats de différents tests utilisés simultanément dans une analyse discriminante permet d'évaluer de manière très précise la probabilité de diagnostic manqué ou de diagnostic erroné.

Le Dr Buyst, en raisonnant sur les phénomènes épidémiologiques observés dans la Luangwa Valley, nous fait ressortir d'une part les raisons (contacts homme-mouche, mouvements du gibier) de l'actuelle poussée épidémique dans l'extrémité nord de la vallée, et d'autre part attire l'attention sur l'importance du facteur hôte (immunitaire) dans les infections d'allure subaiguë causées par *T. rhodesiense* dans cette région.

Le Professeur Lumsden définit certains termes nouveaux, proposés pour définir les populations de trypanosomes, et qui sont devenus indispensables au laboratoire. A côté des vocables de taxonomie Linnéenne, il propose des termes opérationnels, utilitaires, dont certains impliquent une caractérisation des organismes sur base d'analyses antigéniques ou de propriétés physiologiques. Il recommande une uniformisation internationale des désignations de populations utilisées dans les laboratoires pour des recherches sophistiquées : en quelque sorte, une « appellation contrôlée ».

Le Dr Le Ray nous fait part de ses essais en vue de définir antigéniquement les trypanosomes métacycliques. L'hypothèse avancée, selon laquelle chaque sérodème possède son métacyclique spécifique, encourage l'étude des souches isolées sur le terrain pour faire l'inventaire des sérodèmes circulant dans une région. En effet, les caractères d'un sérodème se maintiennent après passage cyclique malgré l'apparition, parfois constatée, de nouveaux types antigéniques.

De son côté, le Dr Jenni donne la recette pour obtenir un haut pourcentage (44 p. cent) de glossines infectées expérimentalement. Cela lui a permis de prouver l'identité antigénique de tous les métacycliques issus

d'une souche ou de clones dérivés de cette souche. D'autre part, des souches différentes et leurs clones dérivés donnent des métatypes différents. L'immunisation est donc recommandée à l'aide de formes métacycliques.

Le Dr Cross définit l'antigène variable de la surface du trypanosome : c'est une souche monomoléculaire de glycoprotéines composée de polypeptides d'environ 600 acides aminés. Elle constitue 5 à 10 p. cent de la teneur en protéines du trypanosome. Elle est attachée à la surface de la couche lipidique double de la membrane. La variation antigénique est le fait de changements dans la séquence dans les acides aminés. L'importance de ces changements est assez inattendue.

Le Dr Gray met en évidence de nombreux types antigéniques communs à plusieurs souches de *T. gambiense* isolés en Afrique de l'ouest et centrale. De plus, des séquences stéréotypées de types antigéniques sont retrouvées dans plusieurs souches. D'autre part, entre *T. b. gambiense*, et *T. b. brucei* ou *T. b. rhodesiense*, il existe des différences beaucoup plus substantielles. Le Dr Van Meirvenne nous parle également de types antigéniques communs à plusieurs souches chez *T. brucei*. Il fait ressortir l'importance de certains types antigéniques qu'il appelle dominants. Les clones d'un type déterminé sont rapidement contaminés par ces types dominants même au cours de séries de passages tous les deux ou trois jours. L'immunité protectrice est mise en évidence par lyse immunitaire avec des antisérums de lapins.

M. Wéry a observé que le rat albinos est le meilleur animal pour l'isolement de souches de *T. b. gambiense*. L'administration préalable de cyclophosphamide augmente considérablement le pourcentage de réussite chez la souris. Le cobaye est très irrégulier dans son comportement.

Les nouvelles méthodes de microscopie électronique sont brillamment illustrées par K. Vickerman. Balayage, cryo-décapage, microanalyse aux RX permettent de mettre en évidence d'infimes différences de morphologie, et donnent des renseignements sur l'activité du transport transmembranaire ainsi que sur la nature et la fonction des inclusions et particules intracytoplasmiques. Également dans le domaine de l'ultrastructure, J. M. Jadin nous rappelle l'existence chez certains trypanosomes sanguicoles de tubules extérieurs, appelés « Filopodium-like processes ». Ils ne seraient pas en rapport avec la digestion. Il s'agirait de hernies de la paroi du trypanosome survenant à la phase préagonique du parasite, alors que la paroi externe est fragilisée. On les observerait également avant la lyse immunitaire des parasites.

Pour combler le fossé qui existe entre biochimistes et morphologistes, le Dr Hecker tente d'établir une évaluation quantitative des changements morphologiques qui interviennent au cours des transformations que subit le trypanosome au cours de son cycle. Les variations du volume de la mitochondrie sont appréciées, de même que le volume d'autres corpuscules intra-cytoplasmiques. Les mesures portent non seulement sur le volume de la mitochondrie mais aussi sur la surface de sa membrane. Une bonne corrélation a été retrouvée entre les mesures morphométriques et les données biochimiques.

D'après le Dr Williamson, le métabolisme du trypanosome est si différent de celui des cellules de l'hôte qu'il devrait être très facile de trouver de nouveaux trypanocides. Les modifications ultrastructurales sous l'effet des drogues actuellement connues sont de trois natures différentes : on note un changement dans la répartition des ribosomes sous l'action de la Tryparsamide et de la Suramine; la Pentamidine, le Berenil et les nouvelles diamidines synthétisées par Dann à Erlangen, de même que les composés hétérocycliques (Trypaflavine, Bromure d'Homidium) provoquent des altérations de la mitochondrie, un morcellement de l'ADN kinétoplastique et une fragmentation du nucléole; les homologues des adénosines inhibent la synthèse protéique et provoquent l'apparition de crevasses dans le cytoplasme.

Le Professeur Janssens a essayé le nifurtimox (Lampit) chez quatre patients infectés par *T. gambiense*, à la suite des résultats encourageants obtenus sur le modèle trypanosomiase chronique du rat albinos par Wéry et Kayembe à Kinshasa. L'administration de nifurtimox est précédée d'injections de Suramine. Les résultats ont été convaincants, la guérison définitive a été observée chez trois des quatre patients, même en seconde période.

Le Dr Ruppel résume son expérience avec le Berenil et la levofuraladone, dans la région du Bas-Zaïre où la résistance au Melarsoprol est devenue courante. La levofuraladone lui a donné 57 p. cent de guérisons définitives chez des patients en première période et 37 p. cent chez des patients en seconde période. En association avec les arsénicaux, la levofuraladone permet d'obtenir 76 p. cent de guérisons définitives, contre 40 p. cent seulement avec les arsénicaux utilisés isolément. L'utilisation du Berenil n'a donné lieu à aucun accident thérapeutique. Chez les patients en première période, les résultats ont été excellents.

Le Professeur Limbos nous rapporte deux observations cliniques où la toxicité de la pentamidine est mise en cause. Des insuffisances rénales surviennent en cours de traitement. L'hypothèse de l'origine toxique de ces lésions est avancée.

Le Professeur Pautrizel présente l'effet des ondes électromagnétiques combinées aux champs magnétiques sur le système immunitaire face à des infestations expérimentales aiguës ou chroniques. Le système n'a pas d'effet direct sur la multiplication des trypanosomes, mais stimule les défenses de l'hôte spécifiques et aspécifiques. L'auteur insiste sur le fait que l'irradiation ne provoque pas d'hyperthermie chez l'animal.

Le Dr Jadin nous a, enfin, énuméré les conditions dans lesquelles les substances lysosomotropes peuvent être utiles en thérapie des infections à trypanosomes. Dans les infections aiguës à *T. cruzi*, le couplage ADN-Bromure d'Ethidium a une efficacité nettement accrue comparée au Bromure d'Ethidium utilisé seul. Le rapport quantitatif ADN/Bromure d'Ethidium a une influence sur l'efficacité de l'association.