

Validité, coût et faisabilité de la mAECT et CTC comme tests de confirmation dans la détection de la Trypanosomiase Humaine Africaine

P. Lutumba^{1,2}, J. Robays², C. Miaka¹, V. Kande¹, D. Mumba³, P. Büscher⁴, B. Dujardin⁵ and M. Boelaert²

¹ Programme National de Lutte contre la Trypanosomiase Humaine Africaine, Kinshasa, République Démocratique du Congo

² Département de Santé Publique, Institut de Médecine Tropicale, Anvers, Belgium

³ Institut National de recherche Bio-Médicale, Kinshasa, République Démocratique du Congo

⁴ Département de Parasitologie, Institut de Médecine Tropicale, Anvers, Belgium

⁵ Ecole de Santé Publique de l'Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgium

Resume

OBJECTIFS Evaluer la validité, le coût et la faisabilité de deux tests parasitologiques pour la confirmation de la maladie du sommeil; la mini Anion Exchange Centrifugation Technique (mAECT) et la Capillary Tube Centrifugation (CTC).

MÉTHODES Au cours d'une campagne de dépistage de la maladie du sommeil en 2004 nous avons examiné 6502 personnes à Kwamouth en République Démocratique du Congo (RDC). Les personnes testées positives au Card Agglutination Test for Trypanosomiasis sur sang total (CATT) ont reçu une ponction ganglionnaire, un examen de sang frais, une goutte épaisse colorée, un examen de mAECT, un examen de CTC et une titration de CATT. La sensibilité et spécificité des tests de confirmation ont été calculées en utilisant la combinaison de tous les tests parasitologiques comme référence standard. Le coût de chaque méthode a été calculé et leur faisabilité a été évaluée par des interviews structurées avec les techniciens.

RÉSULTATS La sensibilité des méthodes parasitologiques classiques était de 44,8% (IC 95%: 36,8–53,0), pour la CTC 56,5% (IC 95%: 48,3–64,5) pour la mAECT 75,3 % (IC 95%: 67,7–81,9). Le coût par test était de 2,82€ pour la mAECT et 0,76€ pour la CTC. Le temps pour l'obtention du résultat était de 29,78 min pour la mAECT et 18,25 min pour la CTC. Ces deux tests ont été jugés faisables sous les conditions de terrain.

CONCLUSION L'utilisation individuelle ou en combinaison de la CTC et de la mAECT comme tests de confirmation sur les personnes au CATT sur sang total apporterait une amélioration considérable de la détection des cas de trypanosomiase humaine africaine. Les deux tests se sont avérés faisables dans des conditions opérationnelles lorsque la disponibilité d'un courant de 220 V pouvait être garantie. Vu que le test mAECT est plus sensible mais considérablement plus coûteux, les analyses de coût-efficacité de la faisabilité devraient guider au choix du meilleur algorithme.

Mots clés Trypanosomiase humaine africaine, validité du diagnostic, R. D. Congo, sensibilité et spécificité, *T. b. gambiense*, dépistage, mini Anion Exchange Centrifugation Technique, Capillary Tube Centrifugation, titration Card Agglutination Test for Trypanosomiasis, CATT

Introduction

La Trypanosomiase Humaine Africaine (THA) est une maladie parasitaire qui touche 36 pays en Afrique subsaharienne. Selon les estimations de l'OMS, soixante millions de personnes seraient exposées au risque d'infection et on estimerait le nombre de personnes infectées à 300 000, et la couverture de la population à risque serait seulement de 10% (WHO Expert Committee 1998). Non-traitée, la THA conduit inéluctablement au décès. La

toxicité des médicaments rend nécessaire un diagnostic de certitude avant la mise sous traitement du malade (Blum *et al.* 2001). Dans la mesure où l'homme est le seul réservoir de *Trypanosoma brucei gambiense*, le traitement de la THA vise non-seulement la guérison du malade mais aussi l'interruption de la chaîne de transmission (WHO Expert Committee 1998). Il est donc important de détecter les personnes infectées le plus précocement possible, et un algorithme de dépistage à la fois très sensible et très spécifique est essentiel. Pendant les campagnes de dépistage

P. Lutumba *et al.* **mAECT et CTC pour confirmer THA**

actif dans la population, un algorithme à trois étapes est utilisé: les suspects THA sont d'abord identifiés à l'aide de la palpation ganglionnaire et/ou le Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT; Lutumba *et al.* 2005). Ensuite, les suspects seront soumis aux tests de confirmation afin de mettre en évidence le parasite. Les cas confirmés subissent l'examen du liquide céphalo-rachidien (LCR) pour détermination de stade. Les tests de confirmation couramment utilisés sur le terrain sont tous des techniques parasitologiques: examen microscopique direct du suc ganglionnaire (PG), examen du sang à l'état frais (SF), et l'examen de la goutte épaisse colorée (GE; Politique nationale de lutte contre la THA en RDC, Kinshasa, 2000). Ces examens de confirmation ont une sensibilité faible ne dépassant pas les 70% même en les combinant en série (Bureau central de la trypanosomiase 1995; Miezán *et al.* 1994). Ce défaut de sensibilité entraîne qu'un nombre considérable de vrais cas de THA n'est pas mis en traitement. Ces personnes vont évoluer vers les complications et entretiennent la chaîne de transmission de la THA (Robays *et al.* 2004). Plusieurs techniques de concentration du sang ont été développées pour améliorer la sensibilité de l'étape de confirmation, dont la mini Anion-exchange Centrifugation Technique (mAECT; Lumsden *et al.* 1979), avec une sensibilité évaluée à 84,5% (Miezán *et al.* 1994). A ce jour, la mAECT a été utilisée à petite échelle et à des fins de recherche, surtout en Afrique de l'Ouest (Côte d'Ivoire et Burkina Faso), au Tchad (Kibonge C, communication personnelle) et dans des essais cliniques en République Démocratique du Congo (RDC). D'autres tests ont été décrits, comme la centrifugation en tube capillaire (CTC; Woo 1970), la double centrifugation du LCR (Cattand *et al.* 1988), la simple centrifugation modifiée (Miezán *et al.* 2000), et le Quantitative Buffy Coat (QBC; Bailey & Smith 1994), mais à part la CTC, aucun ne semble avoir été adopté dans la routine. Au moment de l'élaboration du protocole de cette étude, la production du QBC était à l'arrêt. Van Nieuwenhove and Declercq (1984) avaient proposé la mise en traitement des sujets CATT positifs sur sang total comme stratégie de contrôle de la THA en admettant qu'au maximum 5% des faux positifs pourraient être traités mais cela serait avec un médicament moins toxique: pentamidine. Simarro *et al.* (1999), Garcia *et al.* (2000) et Chappuis *et al.* (2004) ont évoqué l'utilisation du CATT titration dans la décision de mise en traitement des sujets positifs au CATT sur sang total mais dont la parasitologie est négative.

Aucune de ces techniques susmentionnées n'est actuellement utilisée à large échelle par les programmes de contrôle. Les raisons évoquées pour la non-introduction sont notamment le coût, le temps ainsi que leur faisabilité sur terrain. Ces aspects n'ont pas été étudiés

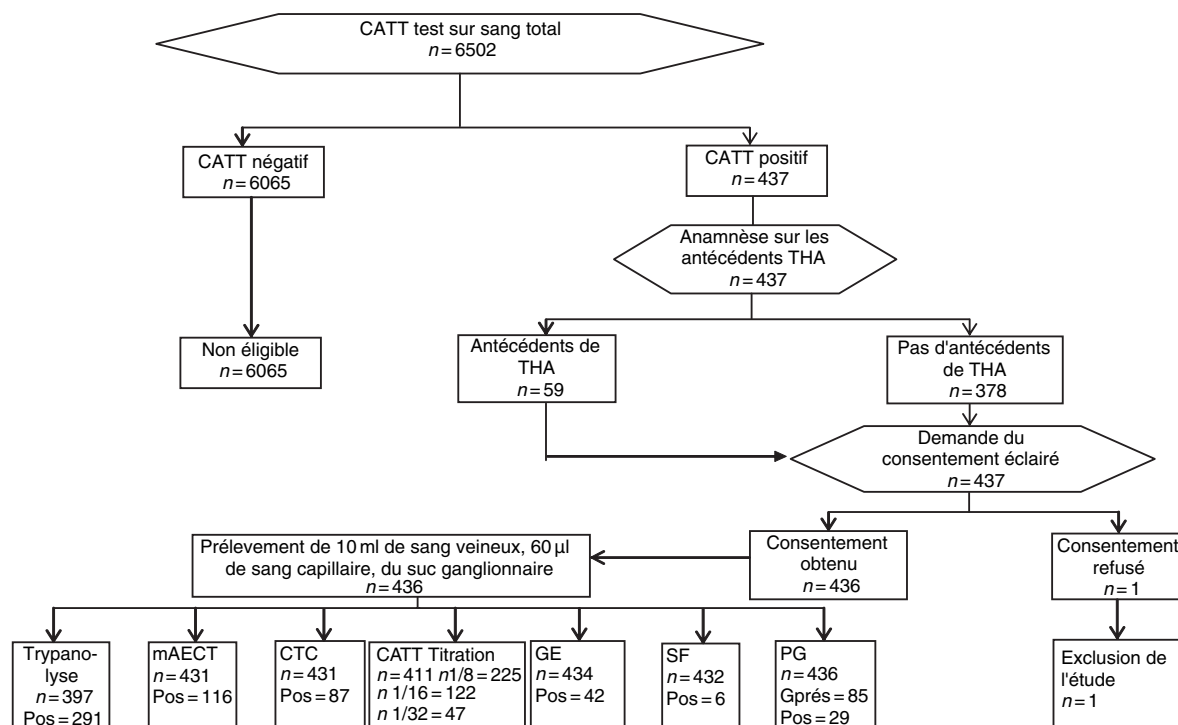
en condition de terrain dans le groupe des suspects sérologiques sur lesquels ces examens seront effectués à l'avenir. Cette étude évalue la validité, le coût, le temps et la faisabilité de la mAECT, de la CTC, et du CATT titration comme tests de confirmation de la THA dans un contexte de campagne de dépistage de population en zone endémique.

Méthode

L'étude a été réalisée entre Février et Mars 2004 dans la région de Kwamouth, le long du fleuve Congo, dans la province de Bandundu en RDC. Le recrutement a eu lieu dans les villages endémiques, pendant plusieurs séances de dépistage actif de l'ensemble de la population, séances menées par une équipe mobile du Programme National de Lutte contre la THA (PNLTHA).

Les normes de qualité internationales promues actuellement en matière d'études diagnostiques de phase 3, exigent de valider un test diagnostique sur un échantillon représentatif des personnes chez qui le test sera appliqué plus tard (Whiting *et al.* 2003). Dans notre cas, il s'agit donc des 'suspects' de THA, identifiés par un CATT sang total positif pendant l'étape initiale de dépistage. Le classement de ces 'suspects' en cas et non-cas (référence standard) s'est opéré en se basant sur la méthode prônée par Alonzo and Pepe (1999) à l'aide des critères suivants: si au moins un de tous les tests parasitologiques exécutés (en incluant la vérification faite pendant l'étape de contrôle de qualité) était positif, le sujet a été considéré comme cas confirmé de THA. Dans le cas contraire, le sujet était classé dans le groupe des non-THA. Nous avons évalué la validité du test par l'estimation de la sensibilité (nombre de Vrais Positifs parmi les cas THA) et la spécificité (nombre de Vrais Négatifs parmi les non-THA). Afin d'estimer la sensibilité et la spécificité avec une marge d'erreur acceptable (maximum 10%), la taille minimale requise pour l'échantillon avait été fixée au préalable à au moins 100 vrais cas de THA et 200 non-cas de THA. Cet échantillon a été recruté de façon consécutive parmi les sujets avec CATT sur sang total positif venant de la population soumise au dépistage actif.

Toute personne se présentant au dépistage actif a été soumise au CATT, exécuté selon Magnus *et al.* (1978), sur environ 40 μ l de sang capillaire et les positifs ont été considérés comme suspects (Voir Figure 1). Chaque suspect ayant donné son consentement éclairé a été inclus dans l'étude et 10 ml de sang veineux sur héparine a été prélevé. Une équipe de cinq techniciens de laboratoire [De niveau Ecole supérieure A1 (trois ans de formation après le baccalauréat) ou niveau secondaire A2 (quatre ans)] a exécuté les tests suivants de façon parallèle: PG, SF, GE,



CATT: card agglutination test for trypanosomiasis

CTC: centrifugation en tubes capillaires

GE: Goutte Epaisse

Gprés: sujet avec ganglions cervicaux hypertrophiés

mAECT: mini-anion exchange centrifugation technique

n: nombre total

PG: Examen du suc ganglionnaire

Pos: examen positif

SF: Sang à frais

THA: Trypanosomiase Humaine Africaine

Figure 1 Algorithme opérationnel et résultats.

mAECT, CTC, et CATT sur plasma dilué afin de comparer les nouvelles techniques avec les classiques. Toutes les lectures se sont déroulées de façon indépendante, sans connaissance du résultat des autres tests. Comme contrôle de qualité, chaque examen parasitologique positif et un dixième des négatifs a été vérifié par un deuxième technicien de laboratoire. Un troisième technicien de laboratoire a tranché en cas de discordance. Le CATT sur plasma dilué a été lu par deux observateurs, et en cas de discordance contrôlé par un troisième. 2 ml de plasma ont été envoyés au laboratoire de l'IMT Anvers pour la trypanolyse (Van Meirvenne *et al.* 1995).

L'examen du suc ganglionnaire, du sang à l'état frais ainsi que de la GE a été conduit selon les protocoles décrits par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS 1993). Les kits mAECT utilisés étaient produits par l'Institut National de Recherche Biomédicale (INRB), Kinshasa, DRC selon le modèle Lumsden *et al.* (1979). Après avoir monté la colonne dans un portoir, 300 µl de sang hépariné sont filtrés et le filtrat est centrifugé à 3000 tours par

minutes pendant 10 min. Le tube de collection est ensuite placé dans une chambre de lecture remplie d'eau. La lecture se fait à l'aide de l'objectif 10× et oculaire 10× directement à travers le tube de collection en se concentrant sur le bout du tube.

La CTC a été réalisée sur du sang capillaire prélevé dans 4 tubes capillaires à hématocrite héparinés. Un bout des tubes est bouché à l'aide de plastique et les tubes sont centrifugés pendant 7 min à la vitesse de 12 000 rpm. Les capillaires sont ensuite placés dans une chambre de lecture. La lecture a lieu à l'aide de l'objectif 10×. La zone entre les globules rouges et blancs est examinée après avoir ajouté une goutte d'eau dans la chambre de lecture.

Le CATT titration a été réalisé sur du plasma. 30 µl de tampon CATT a été mélangé avec 30 µl de plasma de sujet pour avoir la dilution 1/2 puis de ce dernier mélange 30 µl ont été prélevés et mélangés avec 30 µl de tampon CATT pour avoir la dilution 1/4 et ainsi de suite jusqu'à la dilution 1/32. De chaque dilution de plasma, nous avons prélevé 25 µl que nous avons mélangé avec 45 µl de réactif

CATT sur la carte de réaction. La lecture a lieu après 5 min de mélange à l'aide du rotateur CATT.

Les données ont été entrées dans une base de données conçue en Excel, puis analysées à l'aide du logiciel EPI INFO 2002. La sensibilité et la spécificité de la PG, SF, GE, mAECT, CTC et CATT titration ont été estimées en comparant le résultat obtenu par le premier lecteur à la référence définie selon Alonzo and Pepe (1999). Les sensibilités et spécificités sont représentées avec leur Intervalle de Confiance à 95%. En plus de cette validation classique, une estimation des mêmes paramètres a été obtenue par modélisation mathématique selon la méthode Latent Class Analysis (Goodman 1974) à l'aide du logiciel Latent GOLD 2. 0 (Vermunt & Magidson 2000).

Le coût en Euro (€) de chaque examen a été estimé selon la méthode des ingrédients en se basant sur les intrants consommés, les équipements et le temps personnel en fonction de la rémunération des techniciens. Le coût des intrants comprend le prix d'achat et les frais de transport. Le coût des équipements a été ramené au coût par test en tenant compte de la durée de vie et donc du nombre de tests que l'équipement peut permettre de réaliser. Le temps personnel comprend le temps médian de l'exécution du test. La rémunération des techniciens est basée sur leur prime mensuelle en 2004. Le coût par test ne comprend pas les coûts de la mise sur pied d'une unité mobile et de la totalité des coûts de fonctionnement lié au véhicule, microscope, tentes etc.

Le temps médian d'exécution a été calculé sur base de 50 observations par test. Chaque étape du test a été chronométrée en secondes puis le temps global a été obtenu par addition des temps de chaque étape. Pour évaluer la faisabilité de chaque test, les avantages et inconvénients de ces 6 tests ont été énumérés par les laborantins dans un questionnaire écrit structuré.

Le protocole de cette étude a eu l'aval des comités éthiques de l'IMT Anvers et du Ministère de la santé de la RDC. Toutes les personnes avec au moins un test parasitologique positif ont été considérées comme cas de THA confirmés pour la prise en charge. Elles ont subi une ponction lombaire pour déterminer le stade de la maladie afin d'orienter le traitement en comptant le nombre de globules blancs par microlitre (μl) de LCR à l'aide de la cellule de Fuchs-Rosenthal. Les sujets ayant un nombre inférieur ou égal à $5/\mu\text{l}$ et sans la présence du trypanosome dans le LCR sont au premier stade ou stade lymphatico-sanguin de la maladie et ceux ayant un nombre supérieur à $5/\mu\text{l}$ sont à un stade avancé avec implication du système nerveux central ou deuxième stade de la maladie selon les normes de l'OMS (WHO Expert Committee 1998). Les cas confirmés de THA ont été pris en charge selon les normes du programme national PNLTHA (Bureau central de la

trypanosomiase 2002): pentamidine pour les cas au premier stade et melarsoprol pour le second stade.

Resultats

Entre le 28 février et le 20 mars 2004, 6502 personnes ont participé au dépistage de THA dans 13 villages à Kwamouth. 437 d'entre eux étaient positives au CATT sur sang total et 436 ont accepté d'être inclus dans l'étude dont 59 sujets avaient des antécédents de THA (Voir Figure 1). L'âge médian était de 25 ans (Intervalle interquartile 11-37) et 54% étaient de sexe féminin. L'algorithme du PNLTHA suivi par la CTC et la mAECT a pu identifier 144 sujets comme parasitologiquement positifs, mais lors du processus de contrôle de qualité, ce chiffre a été augmenté de 10 personnes. Des 154 sujets confirmés parasitologiquement, 141 ont subi une ponction lombaire de détermination de stade: 91 (64,5%) étaient au premier stade et 50 (35,5%) étaient au deuxième stade. Treize patients n'ont pas subi de ponction lombaire à cause de grossesse ou de refus pour des raisons diverses.

Le Tableau 1 montre la sensibilité et la spécificité des différents tests sur la population 'suspects THA' selon l'estimation classique et celle obtenue par LCA. La sensibilité de la mAECT est estimée à 75,3%, de la CTC à 56,5%, leur spécificité étant considérée à 100% par convention. Le CATT à un seuil 1/8 a une sensibilité de 78,8% et une spécificité de 58,5%. La trypanolyse montre une bonne sensibilité mais une faible spécificité dans ce groupe de CATT sang total positifs. Les estimations obtenues par LCA sont très proches de celles de l'approche classique.

La séquence des examens parasitologiques classiques (PG-SF-GE) a une sensibilité de 44,8%. Le Tableau 2 montre la validité de différentes séquences de tests qui peuvent améliorer la performance de l'algorithme utilisé actuellement.

La Figure 2 donne la courbe ROC pour les différents seuils de dilution du CATT (0, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32) avec une surface en dessous de la courbe de 0,72 (IC à 95%: 0,67-0,77). Le coût par test a été de €2,82 pour la mAECT et de €0,76 pour la CTC. Le temps par test a été de 29,78 min pour la mAECT et 18,25 min pour la CTC (Voir Tableau 3).

Les techniciens interrogés ont évoqué comme avantages des techniques classiques leur rapidité (à part la GE), la facilité, et le fait qu'elles n'exigent pas beaucoup de matériel. Comme inconvénients ils voyaient surtout leur faible sensibilité, l'absence de ganglions chez plusieurs patients de THA et la difficulté de ponctionner certains de ces ganglions de très petite taille. Ils ont insisté sur le temps d'exécution très long de la GE, la difficulté d'examiner la

Table 1 Sensibilité et spécificité des tests de confirmation, du CATT titration et de la trypanolyse dans un groupe de personnes suspectes de THA (tous CATT sang total positifs dans le triage initial)

	Estimation classique*		Estimation LCA†	
	Sensibilité en % (IC à 95%)	Spécificité en % (IC à 95%)	Sensibilité en % (IC à 95%)	Spécificité en % (IC à 95%)
Tous les suspects CATT positifs (<i>n</i> = 436)	<i>n</i> = 154	<i>n</i> = 282		
PG	18,8 (13–25,9)	1‡	20,8 (13,1–27,0)	99,9 (99,6–100)
SF	3,9 (1,4–8,3)	1‡	3,7 (0,5–6,9)	100 (99,9–100)
GE	27,3 (20,4–35)	1‡	25,9 (18,2–33,7)	99,9 (99,9–100)
CTC	56,5 (48,3–64,5)	1‡	57,1 (47,8–66,5)	99,1 (97,1–100)
mAECT	75,3 (67,7–81,9)	1‡	76,4 (67,6–85,2)	99,0 (96,5–100)
CATT au seuil de 1/8	78,8 (71,2–85,1)	58,5 (52,3–64,5)	63,9 (52,8–75,0)	52,7 (45,0–60,3)
Trypanolyse	97,2 (92,9–99,2)	40,0 (33,9–46,3)	98,3 (96,0–100)	25,3 (17,8–32,8)
Groupe sans antécédents THA (<i>n</i> = 378)	<i>n</i> = 151	<i>n</i> = 227		
CATT au seuil de 1/8	78,3 (70,7–84,8)	60,2 (53,2–66,8)		
Trypanolyse	97,1 (92,8–99,2)	49,3 (42,1–56,4)		

*L'estimation classique utilise la positivité d'un de tous les tests parasitologiques exécutés pendant l'étude comme critère pour classer une personne dans le groupe des THA confirmé.

†Selon le modèle final estimé par LCA. Ce modèle comprenait les termes THA, PG|THA, SF|THA, GE|THA, mAECT|THA, CTC|THA, CATT à dilution 1/8|THA, trypanolyse |THA et un terme de corrélation conditionnelle CATT 1/8 avec trypanolyse. Le critère BIC (Bayesian Information Criterion) était de -615,625, et le L^2 de 47,7504, degré de liberté = 111 et $P = 1$.

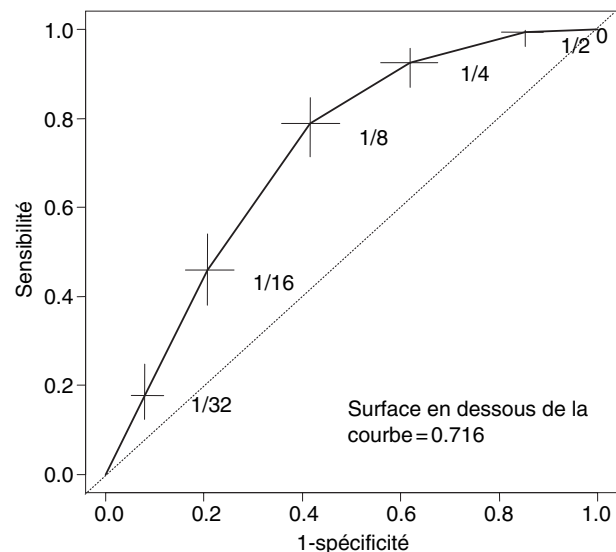
‡La spécificité des examens parasitologiques est considérée comme 100% dans l'approche classique.

Table 2 Sensibilité des différentes séquences de tests de confirmation (*n* = 154)

Séquence de tests	Sensibilité % (95% CI)
PG, SF, GE	44,8 (36,8–53,0)
PG, CTC	64,3 (56,2–71,8)
PG, mAECT	80,5 (73,4–86,5)
GE, CTC	66,9 (58,9–74,2)
GE, mAECT	80,5 (73,4–86,5)
CTC, mAECT,	87,7 (81,4–92,4)
PG, CTC, mAECT	90,3 (84,4–94,4)
GE, CTC, mAECT	90,9 (85,2–94,9)
PG, SF, GE, CTC	74,0 (66,4–80,8)
PG, SF, GE, mAECT	85,7 (79,2–90,8)
PG, GE, CTC, mAECT	93,5 (88,4–96,8)
PG, SF, GE, CTC, mAECT	93,5 (88,4–96,8)

*Spécificité estimée à 100% par convention.

GE pendant la séance de dépistage et la disponibilité du réactif Giemsa. Les avantages de la CTC et de la mAECT rapportés par les techniciens ont été la sensibilité élevée, la rapidité et la facilité de la lecture. Les inconvénients de la CTC et la mAECT sont l'exigence de beaucoup de matériel, exigence d'une source d'énergie 220 V, le besoin de formation spécialisée, le temps d'exécution long et le prix élevé pour la mAECT. La CTC présente la difficulté de mise en évidence du trypanosome en présence des micro-filiaires (Voir Tableau 4).

**Figure 2** Courbe ROC pour différents seuils de Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT) titration sur plasma: 0, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 et 1/32 avec les valeurs d'intervalle de confiance pour la sensibilité et la spécificité.

Discussion

Notre étude démontre qu'il existe des possibilités techniques pour augmenter la sensibilité des algorithmes de

P. Lutumba *et al.* **mAECT et CTC pour confirmer THA****Table 3** Coût* et temps† par test

Test	Coût en Euro	Temps médian (en min)	Intervalle interquartile
PG	0,19	15,81	13,67-15,98
SF	0,21	15,77	15,65-15,86
GE	0,54	47,13	46,94-47,93
CTC	0,76	18,25	12,20-19,53
mAECT	2,82	29,78	26,17-33,88

*Le coût comprend seulement les intrants nécessaires pour la réalisation de l'examen y compris le temps personnel. Le revenu des laborantins est de 120 Euro par mois. Il n'inclue donc pas le coût global de tous les intrants de l'unité mobile: véhicule, microscope, tentes, tables, etc.

†Le temps comprend le temps de toutes les étapes allant du prélèvement à la lecture microscopique.

dépistage de THA dans les conditions de terrain. La sensibilité de la mAECT et de la CTC est significativement supérieure à celle des autres tests de confirmation de la THA. Les examens classiques réalisés en isolé n'ont qu'une faible sensibilité. La très basse sensibilité d'une stratégie basée uniquement sur la ponction ganglionnaire rapportée dans cette étude est expliquée par le fait que la plupart des personnes examinées n'avaient pas d'hypertrophie ganglionnaire. Si on calcule la sensibilité de la PG dans le sous-groupe des personnes qui présentent des ganglions, elle atteint 55,8% (29/52; IC à 95% 41,3-69,5). La combinaison des trois examens classiques n'atteint qu'une sensibilité de 44,8%. Selon nos estimations, l'ajout de la mAECT à cette séquence augmenterait la sensibilité de l'ensemble de 40,9% et l'ajout de la CTC augmenterait la sensibilité de 29,2%.

Comme il n'existe pas de 'gold standard' pour le diagnostic de THA, la valeur d'une étude de validation

dépend de la qualité de classification des sujets dans les groupes des cas et des non-cas. Notre étude porte sur l'évaluation de tests de confirmation, et a été exécutée dans un groupe de personnes suspectes pour THA, c'est à dire avec CATT sang total positif. Le recours à la trypanolyse comme test de référence n'était donc pas une option, car l'antigène réactif dans la trypanolyse fait partie des antigènes de base du CATT. Nous avons adopté comme test de référence une classification basée sur l'ensemble des résultats parasitologiques, en tenant compte du contrôle de qualité. Une définition semblable a aussi été utilisée dans le passé par Miezán *et al.* (1994). Cependant, nous sommes conscients du fait que la sensibilité de notre classification de référence n'est pas parfaite. Par conséquence, l'estimation de la spécificité du CATT au seuil 1/8 pourrait être sous-estimée avec cette approche classique et la sensibilité des examens parasitologiques pourrait être surestimée. C'est la raison pour laquelle nous avons eu recours à la modélisation par Latent Class Analysis (LCA), qui a corroboré nos résultats. La consistance entre l'estimation classique et celle par LCA porterait à croire que le test de référence classique n'aurait pas de défaut majeur.

En excluant tous les sujets avec antécédents THA, la spécificité du CATT titration sur plasma et de la trypanolyse ne sont pas différentes de celle obtenue avec l'échantillon global tel que le montre le Tableau 3. Si cette basse spécificité du test CATT titration peut surprendre, il faut souligner qu'il s'agit ici d'une spécificité estimée dans un groupe des personnes qui étaient suspectes de THA, c'est-à-dire avec CATT sang total positif. Dans notre étude, aucun seuil de CATT titration n'avait suffisamment de pouvoir discriminatoire pour remplacer les tests parasitologiques comme test de confirmation (Voir Figure 2).

Table 4 Avantages et inconvénients de différents tests de confirmation rapportés par questionnaire par 7 techniciens de laboratoire

Techniques	Facilité d'exécution	Facilité de lecture	Matériel requis	Durée totale examen	Détection trypanosome	Coût	Autres
PG	+++	+	+	+	+	+	Absence de ganglions chez certains malades Si ganglions petits difficultés de ponction
SF	+++	+	+	+	+	+	
GE	+	++	++	+++	++	++	Difficulté de lire les lames le même jour par défaut de temps
CTC	+	+++	+++	+++	+++	+++	Il faut une source d'énergie électrique 220 V Si microflaires alors lecture difficile
mAECT	+	+++	+++	+++	+++	+++++	Il faut une source d'énergie électrique 220 V

Facilité d'exécution: de simple +++; à difficile +.

Facilité de lecture: de simple +++; à difficile +.

Matériel requis: de peu +; à beaucoup +++.

Durée totale d'examen: de courte +; à longue +++.

Détection des trypanosomes: de facile +++; à difficile +.

Coût: de plus faible +; à élevé ++++.

P. Lutumba *et al.* **mAECT et CTC pour confirmer THA**

Notre étude, faite dans un contexte de terrain, évalue la performance des tests de confirmation parasitologiques comme légèrement inférieure à celle rapportée par Miezian *et al.* (1994) soit 34,3% (58,6% sur les ganglions positifs) pour la PG, 22,4% pour le SF, 34,5% pour la GE, 48,3% pour la CTC, 84,5% pour la mAECT. Cependant ces auteurs avaient aussi observé une nette supériorité de la mAECT et de la CTC aux examens classiques. Truc *et al.* (1994) ont rapportés des résultats comparables à notre étude: 6/11 patients THA (54,5%) étaient positifs en CTC, 7 (63,6%) en PG dont 3 négatifs en CTC, 10 en mAECT (90,9%). Henry MC *et al.* ont rapporté une sensibilité supérieure du SF et de la GE par rapport à notre étude (Henry *et al.* 1981). Une explication possible serait qu'ils recourent à une référence standard différente donc l'ensemble des positifs venant du PG, SF et GE alors que notre étude s'est basée sur des examens plus sensibles dans la composition de la référence standard. Lorsqu'on compare les résultats de routine du PNLTHA, le sang à l'état frais ne détecte pas plus que 10% des cas de THA dans la même zone de Kwamouth en 2001 et 2002 (Rapport annuel de l'unité mobile de Kwamouth de 2001 et 2002). Dans cette étude, lorsqu'on ne considère que les examens classiques, la proportion des cas en SF est semblable à celle obtenue en routine par le PNLTHA.

Le coût par test est élevé pour la mAECT principalement à cause de son prix d'achat. Le temps d'exécution de la GE est le plus long par rapport aux autres. Le gain obtenu dans l'étape de préparation des examens classiques est perdu lors de la lecture. Pour les examens classiques, il y a plus de champs microscopiques à examiner par rapport à la mAECT et la CTC. Pour tous ces tests, l'estimation du temps par étape surestime le temps réel car entre deux étapes, les techniciens ne restent pas les bras croisés mais peuvent faire autre chose. En exemple, lorsque les échantillons sont centrifugés, les techniciens peuvent procéder à des prélèvements sanguins ou mieux à la préparation d'autres colonnes ou à la filtration pour un examen suivant. De même pour la GE, pendant la coloration des lames, les techniciens peuvent réaliser d'autres activités.

Nous avons pu appliquer les techniques CTC et mAECT sans trop de problèmes sur le terrain moyennant un convertisseur de 12 V vers 220 V en lieu et place du groupe électrogène; ce qui diminue le coût. Leur faisabilité était dans l'ensemble estimée bonne par les techniciens. Comme la réalisation de la CTC et de la mAECT recourt à la centrifugation, nous avons été confronté au problème de l'échauffement des appareils, surtout qu'en condition de terrain au Kwamouth la température à l'ombre va jusqu'à 36 °C. Cet aspect pourra immobiliser les trypanosomes et donc empêcher leur identification. A chaque fois, nous avons alterné deux centrifugeuses pour éviter ce problème.

Nous pouvons donc conclure que les programmes de contrôle de THA disposent de plusieurs options technologiques s'ils veulent améliorer la performance du dépistage THA. Le choix d'un algorithme ne se basera pas seulement sur le critère d'efficacité mais aussi et surtout sur l'efficacité de l'algorithme à différentes situations de prévalence et sur le rapport risque/bénéfice pour le patient comme pour la communauté. Ces aspects peuvent être examinés dans une analyse de coût-efficacité de différents algorithmes dans des conditions différentes de prévalence.

Remerciements

Ce travail a pu être effectué grâce au financement par la Direction Générale de la Coopération au Développement du Royaume de Belgique. Nous remercions Monsieur Joris Menten pour son appui, Monsieur Eddy Magnus pour la réalisation de la trypanolyse et ses commentaires enrichissants, l'équipe de la zone de santé de Kwamouth, l'équipe du centre de santé de Itubi, l'équipe du PNLTHA et de l'INRB. Nos remerciements s'adressent tout spécialement à tous les membres de l'unité de recherche: Didier Kasiana, Kayembe Dito, Roger Kalo Lilo, Edouard Ngamekuomi, Nadine Tusevo, Charles Nsakunga, Mudisi Meli, Leli Ngia, Mbulasambo Moke, Vaso Mokengo, John Mbeke et Nico Bile.

Bibliographie

- Alonzo TO & Pepe MS (1999) Using a combination of reference tests to assess the accuracy of a new diagnostic test. *Statistics in Medicine* **18**, 2987-3003.
- Bailey JM & Smith DS (1994) The quantitative buffy coat for the diagnosis of trypanosomes. *Tropical Doctor* **24**, 54-56.
- Blum J, Nkunku S & Burri C (2001) Clinical description of encephalopathic syndromes and risk factors for their occurrence and outcome during melarsoprol treatment of human African trypanosomiasis. *Tropical Medicine and International Health* **6**, 390-400.
- Bureau central de la trypanosomiase (1995) *Guide technique du Programme national de lutte contre la THA en RD CONGO*. Bureau Central de la Trypanosomiase, Kinshasa.
- Bureau central de la trypanosomiase (2002) *Déclaration de la Politique nationale de lutte contre la trypanosomiase humaine africaine en République démocratique du Congo*. Programme national de lutte contre la THA, Kinshasa.
- Cattand P, Miezian TW & De Raadt P (1988) Human African Trypanosomiasis: use of double centrifugation of cerebrospinal fluid to detect trypanosomes. *Bulletin of the World Health Organization* **66**, 83-86.
- Chappuis F, Adams K, Kidane S, Pittet A & Bovier PA (2004) Card agglutination test for trypanosomiasis (CATT) end-dilution titer and cerebrospinal fluid cell count as predictors of human African Trypanosomiasis (*Trypanosoma brucei gambiense*). *Tropical Medicine and International Health* **9**, 100-105.

P. Lutumba *et al.* **mAECT et CTC pour confirmer THA**

- biense*) among serologically suspected individuals in southern Sudan. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **71**, 313–317.
- Garcia A, Jamonneau V, Magnus E *et al.* (2000) Follow-up of Card Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) positive but apparently aparasitaemic individuals in Côte d'Ivoire: evidence for a complex and heterogeneous population. *Tropical Medicine and International Health* **5**, 786–793.
- Goodman LA (1974) Exploratory latent structure analysis using both identifiable models. *Biometrika* **61**, 215–231.
- Henry MC, Kageruka P, Ruppel JF, Bruneel H & Claes Y (1981) Evaluation du diagnostic sur le terrain de la trypanosomiase à *Trypanosoma brucei gambiense*. *Annales de la Société belge de Médecine Tropicale* **61**, 79–92.
- Lumsden WHR, Kimber CD, Evans DA & Doig SJ (1979) *Trypanosoma brucei*: miniature anion-exchange centrifugation technique for detection of low parasitaemias: adaptation for field use. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **73**, 312–317.
- Lutumba P, Robays J, Miaka C *et al.* (2005) Efficience de différentes stratégies de détection de la Trypanosomiase Humaine Africaine à *T. b. gambiense*. *Tropical Medicine and International Health* **10**, 347–356.
- Magnus E, Vervoort T & Van Meirvenne N (1978) A card-agglutination test with stained trypanosomes (C. A. T. T.) for the serological diagnosis of *T. b. gambiense* trypanosomiasis. *Annales de la Société belge de Médecine Tropicale* **58**, 169–176.
- Miezan TW, Meda AH, Doua F & Cattand P (1994) Evaluation des techniques parasitologiques utilisées dans le diagnostic de la trypanosomiase humaine à trypanosoma gambienseen Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **87**, 101–104.
- Miezan TW, Meda AH, Doua F *et al.* (2000) Single centrifugation of cerebrospinal fluid in a sealed Pasteur pipette for simple, rapid and sensitive detection of trypanosomes. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **94**, 293.
- OMS (1993) *Parasitologie médicale techniques de base pour le laboratoire*. OMS, France.
- Robays J, Miaka MCB, Van der Stuyft P & Boelaert M (2004) The effectiveness of active population screening and treatment for sleeping sickness control in the Democratic Republic of Congo. *Tropical Medicine and International Health* **9**, 542–550.
- Simarro PP, Ruiz JA, Franco JR & Josenando T (1999) Attitude towards CATT-positive individuals without parasitological confirmation in the African Trypanosomiasis (*T. b. gambiense*) focus of Quicama (Angola). *Tropical Medicine and International Health* **4**, 858–861.
- Truc P, Bailey JM, Doua F, Laveissière C & Godfrey DG (1994) A comparison of parasitological methods for the diagnosis of gambien trypanosomiasis in an area of low endemicity in Côte d'Ivoire. *Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **88**, 419–421.
- Van Meirvenne N, Magnus E & Büscher P (1995) Evaluation of variant specific trypanolysis tests for serodiagnosis of human infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. *Acta Tropica* **60**, 189–199.
- Van Nieuwenhove S & Declercq J (1984) Mass serodiagnosis and treatment of serological positives as a control strategy in *Trypanosoma gambiense*. In: *Symposium on the Diagnosis of African Sleeping Sickness due to T. gambiense 1983* (ed. PG Crooy). Smith Kline-RIT, Rixensart, pp. 71–75.
- Vermunt JK & Magidson J (2000) *Latent Gold (2.0)*. Statistical Innovations, Belmont, MA, USA.
- Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM & Kleijnen J (2003) The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology* **3**, 1–25.
- WHO Expert Committee (1998) *Control and surveillance of African Trypanosomiasis*. WHO, Geneva, Switzerland.
- Woo PTK (1970) The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African Trypanosomiasis. *Acta Tropica* **27**, 384–386.

Corresponding Author Marleen Boelaert, Unité d'épidémiologie et contrôle de maladie, Institut de Médecine Tropicale, Nationalestraat 155, 2000 Anvers, Belgium. Tel.: +32 3 247 6305; Fax: +32 3 247 6258; E-mail: mboelaert@itg.be

P. Lutumba *et al.* **mAECT et CTC pour confirmer THA****Validity, cost and feasibility of the mAECT and CTC tests for the confirmation of sleeping sickness diagnosis**

OBJECTIVES To evaluate the validity, cost and feasibility of two parasitological tests for the confirmation of Human African Trypanosomiasis (HAT): the mini Anion-exchange Centrifugation Technique (mAECT) and Capillary Tube Centrifugation (CTC).

METHODS During a sleeping sickness screening campaign in 2004 we screened 6502 people in Kwamouth, DRC. Those with a positive result in the Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT) had a gland puncture, fresh blood examination, stained thick blood film, mAECT, CTC and CATT titration. Sensitivity and specificity of the confirmation tests were calculated using the combination of all parasitological tests as a reference standard. Each method was costed and its feasibility was assessed with structured interviews of the technicians.

RESULTS Sensitivity of classical parasitological methods was 44.8% (36.8–53.0), of CTC 56.5% (48.3–64.5) and of mAECT 75.3% (95% CI: 67.7–81.9). Cost per test was €2.82 for mAECT and €0.76 for CTC. Time per test was 29.78 min for mAECT and 18.25 min for CTC. These two tests were judged feasible in field conditions.

CONCLUSION CTC and mAECT used alone or in combination would bring a considerable improvement to HAT active case finding when used as confirmation tests in CATT-whole blood-positive persons. They proved feasible in operational conditions if a 220 V power supply can be guaranteed. As mAECT is more sensitive but also considerably more expensive, efficiency as well as feasibility considerations will have to guide the choice of the best algorithm.

keywords Human African Trypanosomiasis, diagnostic accuracy, D. R. Congo, sensitivity and specificity, *Trypanosoma brucei gambiense*, screening, mini anion-exchange centrifugation technique, capillary tube centrifugation, card agglutination test for trypanosomiasis titration

Validez, coste y viabilidad de las pruebas mAECT y CTC para la confirmación del diagnóstico de la enfermedad del sueño

OBJETIVOS Evaluar la validez, el coste y la viabilidad de dos test parasitológicos para la confirmación de la enfermedad del sueño: la mini columna de intercambio iónico (mAECT) y la centrifugación del tubo capilar (CTC).

MÉTODOS Durante una campaña para la detección de la enfermedad del sueño en el 2004, se testaron 6502 personas en Kwamouth, DRC. A aquellas con un resultado positivo en la prueba de tripanosomiasis de aglutinación en tarjetas (CATT), se les realizó una punción glándular, examen en sangre fresca, gota gruesa, mAECT, CTC y CATT. Se calcularon la sensibilidad y la especificidad de los test confirmatorios utilizando la combinación de todas las pruebas parasitológicas como un estándar de referencia. El precio de cada método fue calculado y su viabilidad valorada mediante entrevistas estructuradas con los técnicos.

RESULTADOS La sensibilidad de los métodos parasitológicos clásicos fue del 44.8% (36.8–53.0), del CTC 56.5% (48.3–64.5) y del mAECT 75.3% (95% CI: 67.7–81.9). El costo por prueba fue de € 2.82 para mAECT y de € 0.76 para CTC. El tiempo por prueba fue de 29.78 min para mAECT y de 18.25 min para CTC. Estas dos pruebas fueron juzgadas como viables bajo condiciones de campo.

CONCLUSIÓN El CTC y el mAECT, utilizados por sí solos o en combinación, traerían una mejora considerable en la búsqueda activa de casos de tripanosomiasis africana humana, al ser usados como test confirmatorios en personas que han dado positivas con la titulación por CATT. Se probó que son viables en condiciones operativas si se puede garantizar una fuente de energía de 220 V. Puesto que el mAECT es más sensible, pero considerablemente más caro, tanto la eficiencia como las condiciones de viabilidad deberán ser las guías para elegir el mejor algoritmo.

palabras clave: Tripanosomiasis Humana Africana, precisión diagnóstica, D.R.Congo, sensibilidad y especificidad, *T. b. gambiense*, tamizaje, mAECT, CTC, titulación CATT