Académie d'Orléans –Tours
Université François-Rabelais

FACULTÉ DE MÉDECINE DE TOURS

Année 2015 *N°*

MÉMOIRE DE DIPLÔME D'ÉTUDES SPÉCIALISÉES
(D.E.S. de « Biologie médicale »)
TENANT LIEU DE THÈSE D'EXERCICE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Par

Marie-Alix Lestrade-Carluer de Kyvon
née le 23 octobre 1984, à Mamers (72)

Présentée et soutenue publiquement le mardi 6 octobre 2015

Actualités dans le diagnostic biologique des Trypanosomoses Humaines Africaines (THA). À propos d'un cas récent de THA congénitale

Jury

Président : **Monsieur le Professeur Francis Barin, PU-PH, UFR Pharmacie, CHRU Tours**

Membres : **Monsieur le Professeur Louis Bernard, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours**
Monsieur le Professeur Jacques Chandenier, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours
Monsieur le Professeur Alain Goudeau, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours
Madame le Docteur Zoha Maakaroun-Vermesse, PH, CHRU Tours
Monsieur le Docteur Guillaume Desoubeaux, MCU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours

Résumé

Actualités dans le diagnostic biologique des Trypanosomoses Humaines Africaines (THA). À propos d'un cas récent de THA congénitale.

Les trypanosomoses humaines africaines (THA) sont des maladies tropicales vectorielles des zones reculées d'Afrique sub-saharienne, transmises par la mouche tsé-tsé.

À Tours, deux cas de THA ont été diagnostiqués chez une réfugiée en France depuis quatre ans et présentant des troubles neurologiques, ainsi que chez son fils, né en France et présentant le même type de troubles. Le diagnostic a été posé fortuitement en examinant le liquide céphalorachidien de l'enfant ; ce qui a permis de suspecter une THA congénitale et de prendre en charge les deux patients.

À l'occasion de ce travail de thèse et afin d'étayer ces cas cliniques, nous avons souhaité faire un état des lieux de cette pathologie peu connue en France. Les aspects épidémiologiques et cliniques des deux entités que sont les THA chroniques de l'ouest africain et aiguës à l'est sont d'abord évoqués. Dans le cadre de notre DES de biologie médicale, nous nous attardons également sur les outils diagnostiques disponibles et en développement, dont les techniques de détection moléculaire et leur utilisation éventuelle dans des arbres diagnostiques adaptés au stade de la maladie et à la sous-espèce parasitaire en cause. Enfin, nous abordons les aspects thérapeutiques, tant ceux historiques ou de terrain que ceux concernant d'assez nombreuses molécules actuellement en développement.

Même si l'OMS prévoit l'éradication de la maladie du sommeil à brève échéance, en particulier grâce à l'évolution des outils diagnostiques et thérapeutiques tel que nous l'avons rappelé ici, l'absence de spécificité des symptômes et la rareté de la maladie hors des zones d'endémie doivent conduire à rester vigilant dans la pratique médicale en France.

Mots-clés : Trypanosomose humaine africaine, maladie tropicale négligée, vecteur, mouche tsé-tsé, réfugié, troubles neurologiques, transmission congénitale, techniques biologiques, biologie moléculaire, épidémiologie, traitement, arbres diagnostiques.

Summary

Improvements in laboratory diagnostic in Human African Trypanosomiasis (HAT). About a recent case of congenital HAT

The human african trypanosomiasis is a neglected tropical vector-borne disease of remote subsaharian african areas, whose vector is the tsetse fly.

In Tours, two HAT cases were diagnosed in a political refugee with neurological problems who has been in France for 4 years before the diagnosis and her son, born in France, who suffered from the same clinical presentation. HAT was diagnosed by chance while examining the cerebrospinal fluid of the child. After diagnosis and considering the clinical cases, congenital transmission from mother to child was suspected. The two patients were treated accordingly.

This thesis reviews the current situation about this disease in order to back up our clinical cases. Indeed little is known about this disease in France. We develop epidemiological and clinical sides of the two entities discribed in HAT. One of two clinical form is a chronical affection found in ouest Africa while the other is acute and discribed in east Africa. Within the course of the « DES de biologie médicale » we study the current diagnostic tools and those in the pipe line among which is molecular biology. We discuss their places in algorithm for diagnosis and the difference in the algorithms according to staging of the disease and the trypanosomal subspecies involved. Finally we adress the therapeutic aspects, historical ones as much as current and future applications.

WHO foresees elimination of HAT in short notice thanks to rapid developments of diagnostic tools and therapeutic ones. Out of endemic areas, the lack of specificity of symptoms and the low frequency of the disease should stay in minds and we should always be alert.

Keywords : Human african trypanosomiasis, neglected tropical disease, vector-borne, tsetse fly, refugee, neurological problems, congenital transmission, diagnostic tool, molecular biology, epidemiology, therapy, algorithm.

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN
Professeur Patrice DIOT

VICE-DOYEN
Professeur Henri MARRET

ASSESSEURS
Professeur Denis ANGOULVANT, *Pédagogie* Professeur Mathias BUCHLER, *Relations internationales* Professeur Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université* Professeur Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale* Professeur François MAILLOT, *Formation Médicale Continue* Professeur Philippe ROINGEARD, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE
Madame Fanny BOBLETER

****

DOYENS HONORAIRES
Professeur Emile ARON (†) – *1962-1966*
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- *1966-1972*
Professeur André GOUAZÉ - *1972-1994*
Professeur Jean-Claude ROLLAND – *1994-2004*
Professeur Dominique PERROTIN – *2004-2014*

PROFESSEURS EMERITES

Professeur Alain AUTRET
Professeur Catherine BARTHELEMY
Professeur Jean-Claude BESNARD
Professeur Patrick CHOUTET
Professeur Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Professeur Guy GINIES
Professeur Olivier LE FLOCH
Professeur Etienne LEMARIE
Professeur Chantal MAURAGE
Professeur Léandre POURCELOT
Professeur Michel ROBERT
Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P.BARDOS - Ch. BERGER – J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN - L. CASTELLANI J.P. FAUCHIER - B. GRENIER – A. GOUAZE – M. JAN – J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE – J. LANSAC – J. LAUGIER - G. LELORD - G. LEROY - Y. LHUINTRE - M. MAILLET - Mlle C. MERCIER – J. MOLINE - Cl. MORAINE - J.P. MUH - J. MURAT - Ph. RAYNAUD – JC. ROLLAND – Ph. ROULEAU - A. SAINDELLE - J.J. SANTINI - D. SAUVAGE – J. THOUVENOT - B. TOUMIEUX - J. WEILL.

MM. ALISON Daniel.....Radiologie et Imagerie médicale
ANDRES Christian.....Biochimie et Biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis.....Cardiologie
ARBEILLE Philippe.....Biophysique et Médecine nucléaire
AUPART Michel.....Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique.....Cardiologie
BALLON Nicolas.....Psychiatrie ; Addictologie
Mme BARILLOT Isabelle.....Cancérologie ; Radiothérapie
MM. BERNARD Louis.....Maladies infectieuses ; maladies tropicales
BEUTTER Patrice.....Oto-Rhino-Laryngologie
BINET Christian.....Hématologie ; Transfusion
BODY Gilles.....Gynécologie et Obstétrique
BONNARD Christian.....Chirurgie infantile
BONNET Pierre.....Physiologie
Mme BONNET-BRILHAULT Frédérique.....Physiologie
MM. BOUGNOUX Philippe.....Cancérologie ; Radiothérapie
BRILHAULT Jean.....Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent.....Radiologie et Imagerie médicale
BRUYERE Franck.....Urologie
BUCHLER Matthias.....Néphrologie
CALAIS Gilles.....Cancérologie ; Radiothérapie
CAMUS Vincent.....Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques.....Parasitologie et Mycologie
CHANTEPIE Alain.....Pédiatrie
COLOMBAT Philippe.....Hématologie ; Transfusion
CONSTANS Thierry.....Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
CORCIA Philippe.....Neurologie
COSNAY Pierre.....Cardiologie
COTTIER Jean-Philippe.....Radiologie et Imagerie médicale
COUET Charles.....Nutrition
DANQUECHIN DORVAL Etienne.....Gastroentérologie ; Hépatologie
DE LA LANDE DE CALAN Loïc.....Chirurgie digestive
DE TOFFOL Bertrand.....Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....Thérapeutique ; médecine d'urgence
DESTRIEUX Christophe.....Anatomie
DIOT Patrice.....Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague.Anatomie & Cytologie pathologiques
DUMONT Pascal.....Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....Psychiatrie adultes
FAUCHIER Laurent.....Cardiologie
FAVARD Luc.....Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard.....Médecine physique et de Réadaptation
FRANCOIS Patrick.....Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle.....Anatomie & Cytologie pathologiques
FUSCIARDI Jacques.....Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
GAILLARD Philippe.....Psychiatrie d'Adultes
GYAN Emmanuel.....Hématologie ; thérapie cellulaire
GOGA Dominique.....Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
GOUDEAU Alain.....Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe.....Rhumatologie
GRUEL Yves.....Hématologie ; Transfusion
GUERIF Fabrice.....Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
GUILMOT Jean-Louis.....Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
GUYETANT Serge.....Anatomie et Cytologie pathologiques
HAILLOT Olivier.....Urologie
HALIMI Jean-Michel.....Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et Immunologie clinique)
HANKARD Régis.....Pédiatrie
HERAULT Olivier.....Hématologie ; transfusion
HERBRETEAU Denis.....Radiologie et Imagerie médicale
Mme HOMMET Caroline.....Médecine interne, Gériatrie et Biologie du vieillissement
MM. HUTEN Noël.....Chirurgie générale
LABARTHE François.....Pédiatrie
LAFFON Marc.....Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
LARDY Hubert.....Chirurgie infantile
LAURE Boris.....Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LEBRANCHU Yvon.....Immunologie
LECOMTE Thierry.....Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
LESCANNE Emmanuel.....Oto-Rhino-Laryngologie

LINASSIER Claude .....Cancérologie ; Radiothérapie
LORETTE Gérard .....Dermato-Vénéréologie
MACHET Laurent.....Dermato-Vénéréologie
MAILLOT François.....Médecine Interne
MARCHAND-ADAM Sylvain .....Pneumologie
MARRET Henri .....Gynécologie et Obstétrique
MARUANI Annabel .....Dermatologie
MEREGHETTI Laurent .....Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain .....O.R.L.
MULLEMAN Denis.....Rhumatologie
PAGES Jean-Christophe .....Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles.....Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
PATAT Frédéric .....Biophysique et Médecine nucléaire
PERROTIN Dominique .....Réanimation médicale ; médecine d'urgence
PERROTIN Franck .....Gynécologie et Obstétrique
PISELLA Pierre-Jean.....Ophtalmologie
QUENTIN Roland .....Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
REMERAND Francis.....Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale
ROBIER Alain .....Oto-Rhino-Laryngologie
ROINGEARD Philippe .....Biologie cellulaire
ROSSET Philippe .....Chirurgie orthopédique et traumatologique
ROYERE Dominique.....Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
RUSCH Emmanuel.....Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
SALAME Ephrem.....Chirurgie digestive
SALIBA Elie.....Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme SANTIAGO-RIBEIRO Maria .....Biophysique et Médecine Nucléaire
MM. SIRINELLI Dominique.....Radiologie et Imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre .....Pédiatrie
Mme TOUTAIN Annick .....Génétique
MM. VAILLANT Loïc .....Dermato-Vénéréologie
VELUT Stéphane .....Anatomie
WATIER Hervé .....Immunologie.

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

M. LEBEAU Jean-Pierre .....Médecine Générale
Mme LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie .....Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM. MALLET Donatien.....Soins palliatifs
POTIER Alain.....Médecine Générale
ROBERT Jean .....Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - **PRATICIENS HOSPITALIERS**

Mme ANGOULVANT Théodora.....Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique : addictologie
M. BAKHOS David .....Physiologie
Mme BERNARD-BRUNET Anne .....Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M. BERTRAND Philippe .....Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
Mme BLANCHARD Emmanuelle .....Biologie cellulaire
BLASCO Hélène .....Biochimie et biologie moléculaire
M. BOISSINOT Éric .....Physiologie
Mme CAILLE Agnès .....Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M. DESOUBEAUX Guillaume.....Parasitologie et mycologie
Mme DUFOUR Diane .....Biophysique et Médecine nucléaire
M. EHRMANN Stephan .....Réanimation médicale
Mme FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie..Anatomie et Cytologie pathologiques
M. GATAULT Philippe.....Néphrologie
Mmes GAUDY-GRAFFIN Catherine.....Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie .....Immunologie
GUILLON-GRAMMATICO Leslie.....Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
MM. HOARAU Cyrille.....Immunologie
HOURIOUX Christophe .....Biologie cellulaire
Mmes LARTIGUE Marie-Frédérique .....Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
LE GUELLEC Chantal .....Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine .....Anatomie et Cytologie pathologiques
MM. PIVER Eric .....Biochimie et biologie moléculaire

ROUMY Jérôme.....Biophysique et médecine nucléaire in vitro
Mme SAINT-MARTIN Pauline .....Médecine légale et Droit de la santé
MM. SAMIMI Mahtab .....Dermatologie
TERNANT David.....Pharmacologie – toxicologie
Mme VALENTIN-DOMELIER Anne-Sophie..Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière
M. VOURC'H Patrick.....Biochimie et Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFERENCES

Mme ESNARD Annick .....Biologie cellulaire
M. LEMOINE Maël.....Philosophie
Mme MONJAUZE Cécile .....Sciences du langage - Orthophonie
M. PATIENT Romuald .....Biologie cellulaire

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Mmes HUAS Caroline.....Médecine Générale
RENOUX-JACQUET Cécile .....Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

M. BOUAKAZ Ayache.....Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
Mmes BRUNEAU Nicole .....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie.....Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM. CHARBONNEAU Michel.....Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
COURTY Yves.....Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
GAUDRAY Patrick .....Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GILOT Philippe .....Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice .....Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes GOMOT Marie .....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GRANDIN Nathalie .....Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
HEUZE-VOURCH Nathalie.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
MM. KORKMAZ Brice .....Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric.....Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE Alain .....Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
Mme MARTINEAU Joëlle .....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM. MAZURIER Frédéric.....Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-Christophe .....Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
RAOUL William.....Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
Mme RIO Pascale.....Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1069
M. SI TAHAR Mustapha.....Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour la Faculté de Médecine
Mme BIRMELE Béatrice .....Praticien Hospitalier *(éthique médicale)*
M. BOULAIN Thierry.....Praticien Hospitalier *(CSCT)*
Mme CRINIERE Lise .....Praticien Hospitalier
(endocrinologie) M. GAROT Denis .....Praticien
Hospitalier *(sémiologie)* Mmes MAGNAN
Julie.....Praticien Hospitalier *(sémiologie)*
MERCIER Emmanuelle .....Praticien Hospitalier *(CSCT)*

Pour l'Ecole d'Orthophonie
Mme DELORE Claire .....Orthophoniste
MM. GOUIN Jean-Marie .....Praticien Hospitalier
MONDON Karl .....Praticien Hospitalier
Mme PERRIER Danièle.....Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie
Mme LALA Emmanuelle .....Praticien Hospitalier
M. MAJZOUB Samuel.....Praticien Hospitalier

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans 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 le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, mes vifs remerciements au **Professeur Francis Barin**, mon président de thèse, Professeur des Universités et Praticien-Hospitalier au CHRU de Tours. Merci pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse, veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À mon directeur de thèse, **Monsieur Guillaume Desoubeaux,** Maître de Conférences des Universités et Praticien hospitalier au sein du service de Parasitologie, Mycologie et Médecine tropicale du CHRU de Tours. Merci d'avoir accepté de diriger ce travail et merci pour le temps que tu m'as accordé malgré un planning chargé. Ton esprit et ta rigueur scientifique sont un exemple. Trouve ici le témoignage de mon profond respect.

Au Professeur Jacques CHANDENIER, Professeur des Université, Praticien Hospitalier et Chef du service de Parasitologie, Mycologie et Médecine tropicale du CHRU de Tours. Merci de vous être impliqué activement dans mon travail, merci pour vos nombreuses relectures et pour vos précieux conseils. Je vous remercie de m'accorder votre confiance et de croire en moi. Je souhaite que vous trouviez dans ce travail le témoignage de ma gratitude et de ma très grande estime.

Aux membres du jury :

À Monsieur le Professeur Louis Bernard, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier et chef du service de Médecine interne et de Maladies infectieuses et tropicales du CHRU de Tours, vous me faites l'honneur de siéger parmi mes juges. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

À Monsieur le Professeur Alain Goudeau, Professeur des Universités, Praticien Hospitalier et chef du service de Bactériologie et de Virologie du CHRU de Tours. Votre présence me fait honneur, soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À Madame le **Docteur Zoha Maakaroun-Vermesse**, Docteur en Médecine et Praticien hospitalier au sein du service de Médecine interne et hospitalisation du CHRU de Tours. Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail, vous me faites l'honneur de siéger parmi mes juges. Veuillez trouver ici mes sincères remerciements.

Au **Service de Bactériologie-Virologie de l'hôpital Bretonneau** pour sa réactivité. Merci au Docteur **Philippe Lanotte** et monsieur **Laullier** qui ont pris une part active dans le diagnostic des deux cas de THA et ont ainsi permis une prise en charge rapide des patients.

Je tiens à remercier particulièrement le **Docteur Jannin,** le **Docteur Franco** et le **Docteur Simarro** pour leur réactivité lors de nos demandes d'informations à propos du traitement et de la fourniture rapide de celui ci.

Mes remerciements s'adressent également :

À mes parents, mes grands-parents, mon frère Louis-Henri et ma sœur Anne-Sophie. Merci à eux, pour leur soutien, leurs encouragements et leur patience tout au long de ce cursus qui semblait interminable. Ma grand-mère et mon grand-père indissociables de ma réussite!

À mon amie Anaïs, pour avoir toujours été là pour moi ces dix dernières années et pour avoir contribué, sans le savoir, à ma réussite. À Xian, qui par sa patiente a su écouter mes petites et grandes plaintes. Et enfin à Estelle, tu as toujours su me faire rire.

À Sophie, « poulette », ma co-Interne et mon amie! MERCI pour ton aide, sans toi cette thèse n'aurait pas cette mise en page, sans ton aide précieuse je serai encore à essayer de me dépatouiller avec Zotero et mes références.

À Benoit et Lauranne, merci de m'avoir tant aidé à tenir les délais qui m'étaient impartis.

À tous mes co-internes avec lesquels j'ai partagé mes stages, mes virées, mes soirées (arrosées) et mes fous rires ces quatre dernières années.

Aux techniciennes du laboratoire de Parasitologie de Bretonneau, je tenais à vous remercier pour toutes les fois où je vous ai sollicitées.

Et merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de ma formation : amis, médecins, équipes soignantes, patients…

Sommaire

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

I RAPPEL 12

I.A EPIDEMIOLOGIE DES TRYPANOSOMOSES HUMAINES AFRICAINES (THA) 12

I.A.1 Histoire de l'évolution épidémiologique 12

I.A.2 Le parasite 14

I.A.2.a Classification du parasite 14

I.A.2.b Les deux agents des THA 15

I.A.2.c Morphologie et localisation chez son hôte vertébré 16

I.A.3 Réponse immunitaire chez l'hôte vertébré 19

I.A.3.a Rôle des anticorps 19

I.A.3.b Rôle des macrophages 19

I.A.4 Le vecteur diptère hématophage = la mouche tsé-tsé 20

I.A.5 Cycle parasitaire 22

I.A.6 Modes de transmission 24

I.A.6.a Transmission par piqûre de la glossine 24

I.A.6.b Transmission verticale 24

I.A.6.c Inoculation par voie sanguine 24

I.A.6.d Transmission par voie sexuelle 24

I.A.6.e Inoculation par un autre vecteur 24

I.A.7 Situation actuelle et répartition géographique 25

I.A.7.a Nombre de cas de THA 25

I.A.7.b Distribution sur le continent africain et les facteurs de risque de transmission de la maladie 27

I.A.7.b.i Afrique de l'Est/Afrique de l'Ouest 27

I.A.7.b.ii Zones d'épidémie dans les régions africaines 29

I.A.7.c Cas d'importation 30

I.B CLINIQUE DES THA 31

I.B.1 Chancre d'inoculation 32

I.B.2 Période d'incubation 32

I.B.3 Développement en deux stades cliniques 33

I.B.3.a Phase lymphatico-sanguine 34

I.B.3.a.i Lymphadénopathies 34

I.B.3.a.ii Fièvre 35

I.B.3.a.iii Céphalées 35

I.B.3.a.iv Trypanides 35

I.B.3.a.v Prurit 35

I.B.3.a.vi Oedèmes 35

I.B.3.a.vii Hépato-splénomégalie 35

I.B.3.a.viii Syndrome douloureux 36

I.B.3.a.ix Troubles cardiovasculaires 36

I.B.3.b Phase hémato-encéphalique 37

I.B.3.b.i Troubles du sommeil 37

I.B.3.b.ii Tableau neurologique 38

I.B.3.b.iii Désordres endocriniens 39

I.B.4 Autres tableaux cliniques 39

I.B.4.a Portage sain 39

I.B.4.b Populations à part 39

I.B.4.b.i Les enfants 39

I.B.4.b.ii Les voyageurs 39

I.C OUTILS DIAGNOSTIQUES DES THA 40

I.C.1 Signes biologiques d'orientation diagnostique 40

I.C.1.a Numération formule sanguine 40

I.C.1.b Électrophorèse des protéines sériques 41

I.C.1.c Syndrome inflammatoire biologique 41

I.C.2 Examens de dépistage et autres diagnostic indirect *41*
I.C.2.a Détection des anticorps 42
I.C.2.a.i Test d'immuno-trypanolyse 43
I.C.2.a.ii ImmunoFluorescence indirecte (IFI) 43
I.C.2.a.iii Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT) 44
I.C.2.a.iii.1) CATT-WB (Whole blood) 44
I.C.2.a.iii.2) CATT-P (Plasma) 45
I.C.2.a.iii.3) Algorithme d'utilisation du CATT 45
I.C.2.a.iii.4) CATT-FP (CATT-Filter Paper) 46
I.C.2.a.iv Le test latex/*T. b. gambiense* 47
I.C.2.a.v Tests de Diagnostic Rapide (TDR) 47
I.C.2.a.vi Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays (ELISA) 48
I.C.2.a.vii Nouveaux Antigènes 49
I.C.2.b Détection moléculaire 50
I.C.2.b.i Séquences cibles 50
I.C.2.b.i.1) Sous genre Trypanozoon 50
I.C.2.b.i.2) Sous-espèces pathogènes pour l'Homme 51
I.C.2.b.i.2)a) Sous-espèce *T. b. gambiense* 52
I.C.2.b.i.2)b) Sous-espèce *T. b rhodesiense* 52
I.C.2.b.ii Les différentes techniques 52
I.C.2.b.ii.1) Polymérase Chain Réaction (PCR) et dérivés 53
I.C.2.b.ii.1)a) PCR classique 53
I.C.2.b.ii.1)b) PCR nichée 53
I.C.2.b.ii.1)c) PCR multiplexe 54
I.C.2.b.ii.2) Amplification d'Acide Nucléique Spécifique (NASBA) 54
I.C.2.b.ii.3) Amplification à médiation par boucle (LAMP) 55
I.C.2.b.ii.4) Technique de l'ADN branché 57
I.C.2.b.ii.5) Techniques utilisant la fluorescence 58
I.C.2.b.ii.5)a) Fluorescent fragment-length barcoding (FFLB) 58
I.C.2.b.ii.5)b) Acides nucléiques peptidiques par fluorescence *in situ* (PNA-FISH) 58
I.C.3 Examens de confirmation parasitologique *59*
I.C.3.a Examen direct simple parasitaire 60
I.C.3.a.i Examen de l'exsudat du chancre d'inoculation 60
I.C.3.a.ii Examen du suc ganglionnaire 60
I.C.3.a.iii Examens sur sang total 61
I.C.3.a.iii.1) État frais 61
I.C.3.a.iii.2) Frottis sanguin coloré 61
I.C.3.b Examens de concentration parasitaire 61
I.C.3.b.i Technique de la goutte épaisse 61
I.C.3.b.ii Technique d'hémolyse-concentration 62
I.C.3.b.iii Centrifugation en tube à micro-hématocrite 62
I.C.3.b.iv Technique de la couche leuco-plaquettaire (*Quantitative Buffy Coat)* 63
I.C.3.b.v Technique de la mini-colonne échangeuse d'anions 63
I.C.4 Examens pour le diagnostic de phase *64*
I.C.4.a Protéinorachie : non nécessaire 64
I.C.4.b Diagnostic de phase classique 65
I.C.4.b.i Numération de la cytorachie 65
I.C.4.b.ii Mise en évidence des parasites dans le LCR 65
I.C.4.b.iii Critères pour le diagnostic de phase 66
I.C.4.c Marqueurs biologiques du LCR en développement pour la stadification des THA 66
I.C.4.c.i Recherche d'une réponse immunitaire humorale intrathécale 66
I.C.4.c.ii Autres marqueurs de la réponse immunitaire dans le LCR 67
I.C.4.d Place des tests de biologie moléculaire 67
I.C.4.e Marqueurs de phase dans le sérum 68
I.C.5 Arbres diagnostiques *68*
I.C.5.a Dépistage de masse 68
I.C.5.a.i Dépistage de masse pour *T. b. gambiense* 68
I.C.5.a.ii Dépistage de masse pour *T. b. rhodesiense* 69
I.C.5.b Dépistage passif 69
I.C.5.b.i Dépistage passif pour *T. b. gambiense* 69
I.C.5.b.ii Dépistage passif pour *T. b. rhodesiense* 70
I.C.5.c Algorithmes diagnostic de la THA à *T. b. gambiense* 70
I.C.5.c.i Évaluation des algorithmes 70
I.C.5.c.ii Cas des patients séropositifs sans confirmation parasitologique 72

I.D TRAITEMENT DES THA 73
I.D.1 Médicaments *73*
I.D.1.a Molécules usuelles 74
I.D.1.a.i Suramine (Germanin®) 74
I.D.1.a.ii Pentamidine (Pentacarinat®) 75
I.D.1.a.iii Mélarsoprol (Arsobal®) 76
I.D.1.a.iv Nifurtimox (Lampit®) 77
I.D.1.a.v Éflornithine (Ornidyl®) 78
I.D.1.b Nouvelles molécules 80
I.D.1.b.i Dérivés de molécules existantes 81
I.D.1.b.i.1) Complexes moléculaires mélarsoprol-cyclodextrine : 81
I.D.1.b.i.2) Prodrogues de la pentamidine : 81
I.D.1.b.ii Autres composés 82
I.D.1.b.ii.1) Dérivés nitroimidazolés : 82
I.D.1.b.ii.1)a) Fexonidazole 82
I.D.1.b.ii.1)b) Autres dérivés nitro-imidazolés 82
I.D.1.b.ii.2) Cordycepine-pentostatine : 82
I.D.1.b.ii.3) Poisons de la topoisomérase IA : 82
I.D.1.b.ii.4) I Inhibiteurs de la N-myristoyltransferase : 82
I.D.1.b.ii.5) Diamidine : 83
I.D.1.b.ii.6) Benzoxaborole : 83
I.D.1.c Combinaisons 83
I.D.2 Indications et conduites pratiques du traitement *84*
I.D.2.a Traitement de la THA à *T. b. gambiense* 84
I.D.2.a.i Traitement de la THA à *T. b. gambiense* à la phase I : *pentamidine* 84
I.D.2.a.ii Traitement de la THA à *T. b. gambiense* à la Phase II 85
I.D.2.a.ii.1) NECT 85
I.D.2.a.ii.2) Éflornithine 86
I.D.2.a.ii.3) Mélarsoprol 86
I.D.2.b Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* 87
I.D.2.b.i Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* à la phase I 87
I.D.2.b.i.1) Suramine 87
I.D.2.b.i.2) Pentamidine 87
I.D.2.b.ii Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* à la phase II : *mélarsoprol* 87
I.D.3 Suivi des patients et contrôle de l'efficacité du traitement *88*
I.D.3.a Suivi à trois mois 88
I.D.3.b Suivi à six mois 88
I.D.3.b.i Les patients en phase I de THA lors du diagnostic 89
I.D.3.b.ii Les patients en phase II de THA lors du diagnostic 89
I.D.3.c Suivi tardif 89
I.D.3.c.i Les patients en phase I de THA lors du diagnostic 89
I.D.3.c.ii Les patients en phase II de THA lors du diagnostic 89
I.D.3.d Les marqueurs de suivi en cours d'évaluation 89
I.D.3.d.i Concentration de l'Il-10 dans le LCR 90
I.D.3.d.ii Concentration d'IgM et d'Ac spécifiques anti-trypanosomes dans le LCR 90
I.D.3.d.iii Dosage de la néoptérine dans le LCR 90
I.D.3.d.iv Dosage sanguin de cytokines 90
I.D.3.d.v Dosage de l'Arginase dans le sang 91

II CAS DE TRYPANOSOMOSES HUMAINES AFRICAINES DIAGNOSTIQUEES CHEZ UNE MERE ET SON ENFANT DE 14 MOIS AU CHRU DE TOURS 93
II.A TABLEAUX CLINIQUES DE DAN ET SA MAMAN 94
II.A.1 Tableau clinique de Dan *94*
II.A.1.a Anamnèse 94
II.A.1.b Tableau clinique à l'arrivée à Tours 95
II.A.1.c Explorations cliniques, biologiques et d'imagerie à Tours 95
II.A.2 Tableau clinique de Nadège *97*
II.A.2.a Anamnèse 97
II.A.2.b Tableau clinique à l'arrivée à Tours 99
II.A.2.c Explorations cliniques, biologiques et d'imagerie à Tours 99
II.B DIAGNOSTIC 105
II.B.1 Confirmation diagnostique *105*
II.B.1.a Confirmation diagnostique chez Dan 105

II.B.1.a.i Recherche du parasite 105
II.B.1.a.i.1) Examen sanguin 105
II.B.1.a.i.2) Examen du LCR 106
II.B.1.a.ii Détection des Anticorps 106
II.B.1.a.ii.1) Sérologie parasitaire 106
II.B.1.a.ii.2) Détection des Anticorps parasitaires 107
II.B.1.b Confirmation diagnostique chez Nadège 107
II.B.1.b.i Recherche parasitaire chez Nadège 107
II.B.1.b.i.1) Examen sanguin 107
II.B.1.b.i.2) Examen du LCR 108
II.B.1.b.ii Détection des Anticorps 108
II.B.1.b.ii.1) Sérologie parasitaire 108
II.B.1.b.ii.2) Détection des anticorps parasitaires dans le LCR 108
II.B.2 Diagnostic de phase 109
II.B.2.a Diagnostic de phase de Dan 109
II.B.2.b Diagnostic de phase de Nadège 109
II.C CHOIX ET SUIVI DE LA TOLERANCE ET DE L'EFFICACITE DU TRAITEMENT 109
II.C.1 Traitement 109
II.C.2 Suivi du traitement 110
II.C.2.a Tolérance de la DFMO 110
II.C.2.a.i Tolérance de la DFMO chez Dan 110
II.C.2.a.ii Tolérance de la DFMO chez Nadège 110
II.C.2.b Évolution après traitement par DFMO 110
II.C.2.b.i Évolution de Dan après traitement par DFMO 110
II.C.2.b.i.1) Évolution clinique 110
II.C.2.b.i.2) Évolution des signes biologiques 111
II.C.2.b.i.2)a) Évolution du bilan sanguin 111
II.C.2.b.i.2)b) Contrôle parasitologique sanguin 114
II.C.2.b.i.2)c) Évolution de l'examen du LCR 114
II.C.2.b.i.2)d) Évolution des taux d'anticorps 114
II.C.2.b.i.2)e) Évolution du dosage des cytokines sanguines 115
II.C.2.b.i.2)f) Arginase 115
II.C.2.b.i.3) Évolution des lésions à l'IRM 116
II.C.2.b.ii Évolution de Nadège après traitement par DFMO 117
II.C.2.b.ii.1) Évolution clinique 117
II.C.2.b.ii.2) Évolution des signes biologiques 118
II.C.2.b.ii.2)a) Évolution du bilan sanguin 118
II.C.2.b.ii.2)b) Contrôle parasitologique sanguin 119
II.C.2.b.ii.2)c) Évolution de l'examen du LCR 119
II.C.2.b.ii.2)d) Évolution des taux d'anticorps 120
II.C.2.b.ii.2)e) Évolution du dosage des cytokines sanguines 121
II.C.2.b.ii.2)f) Arginase 121
II.C.2.b.ii.2)g) Évolution de la concentration sérique d'anticorps anti-cardiolipide IgG et IgM et d'Ac anti-bêta2GP1 IgG et IgM de Nadège 121
II.C.2.b.ii.3) Évolution des lésions à l'IRM 122
III DISCUSSION 123
CONCLUSION 137

Liste des abréviations

Ac : anticorps
Ag : antigène
ADN : acide désoxyribonucléique
ADNP : adénopathie
ALAT : alanine aminotransférase
AMM : autorisation de mise sur le marché
ANOFEL : association française des enseignants de parasitologie et mycologie
ARN : acide ribonucléique
ASAT : aspartate aminotransférase
ATP : adénosyl triphosphate
AUDIPOG : association des utilisateurs de dossiers informatisés en pédiatrie, obstétrique et gynécologie
Auto-ac : auto-anticorps
BAL : *british anti-lewisite*
BL : lymphocyte B
BHE : barrière hémato-encéphalique
CATT : *Card agglutination test for trypanosomiasis*
CATT-FP : *Card agglutination test for trypanosomiasis-filter paper*
CATT-P : *Card agglutination test for trypanosomiasis-plasma*
CATT-WB : *Card agglutination test for trypanosomiasis-whole blood*
CRP : C reactive protein
CXCL-13 : C-X-C *motif chemokine*-13
DFMO : DL-α- difluoro-méthyl-ornithine ou éflornithine
DMM : date de mise sur le marché
DNDi : *drug for neglected diseases initiative*
DPP : dossier patient partagé
DS : déviation standard
EBV : *ebstein-barr virus*
ECG : électrocardiogramme
ECBU : examen cytobactériologique des urines
EDTA : éthylène diamine tétra-acétique
EEG : électro-encéphalogramme
ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*
EMT : *essential medicines list* ou liste des médicaments essentiels
EPPs : électrophorèse des protéines sanguines
ESAG6/7 : *expression-site-associated genes 6/7*
ETat : *edinburgh trypanozoon antigen repertoire*
ETO : échographie transoesophagienne
ETT : échographie cardiaque trans-thoracique
FAO : *food and argriculture organization of the united nations*
FEVG : fraction d'éjection du ventricule gauche
FFLB : *fluorescent fragement-length barcoding*
FISH : *fluorescence-hybridation in situ*
FLAIR : *fluid-attenuated inversion recovery*
FLT : facteur de lyse du trypanosome
GB : globules blancs
GH : *growth hormone*
GPI-PLC : *glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipaseC*

GR : globules rouges
HAPT : récepteur de haute affinité-faible capacité à la pentamidine
Hb : hémoglobine
HG : hémagglutination
HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance
HSM : hépato-splénomégalie
ICAM-1 : *intercellular adhesion molecule*-1
IF : immunofluorescence
IFI : immunofluorescence indirecte
IFN-γ : interféron-γ
Ig : immunoglobuline
Il-2 : interleukine-2
Il-6 : interleukine-6
Il-10 : interleukine-10
IM : intramusculaire
IRD : Institut pour la recherche et le développement
IRM : imagerie par résonnance magnétique
ISG : *invariant surface glycoprotein*
ITS-1 : *first internal transcibed spacer*
IV : intraveineux
kb : kilobase
kDa : kilodalton
LAMP : amplification par médiation par boucle
LCR : liquide céphalo-rachidien
LiTat : *lille trypanozoon antigen types*
LT : lymphocyte T
mAECT : *mini-anion-exchange centrifugation technique*
mAECT-BC : *mini-anion-exchange centrifugation technique buffy coat*
MDA : amplification par déplacement multiple
MGG : may-grünwald giemsa
mHCT : *microhaematocrit centrifugation technique* ou centrifugation en tube à micro-hématocrite
MMP-9 : métalloprotéase-9
MØ : macrophage
MSF : médecin sans frontière
NASBA : amplification d'acide nucléique spécifique
NECT : *Nifurtimox éflornithine combination therapy*
NFS : numération formule sanguine
NMT : *N*-myristoyltransferase
NO : monoxyde d'azote
NOS : *nitric oxide synthase*
NSE : *neuronal specific enolase*
OC : oligo-chromatographie
ODC : *ornithine decarboxylase*
OMS : organisation mondiale de la santé
ONG : organisation non gouvernementale
PATTEC : *Pan-african tsetse and trypanosomosis eradication campaign*
PCR : *polymerase chain reaction*
PCT : procalcitonine
PDB : paire de base
PL : ponction lombaire
PNA : acides nucléiques peptidiques
PNA-FISH : Acides nucléiques peptidiques par fluorescence *in situ*
PNLTHA : programmes nationaux de lutte contre les trypanosomoses humaines africaines

PNN : polynucléaires neutrophiles
PSG : polysomnographique
QBC : *quantitative buffy coat*
RCA : République Centrafricaine
RDC : république démocratique du Congo
rDNA : acide désoxyribonucléique ribosomal
RIME : éléments génétiques mobiles répétés
SOREMP : *sleep onset rapid eye movement period*
SNC : système nerveux central
SRA : *serum resistance associated*
SSP : soin de suite pédiatrique
T : trypanosome
T. brucei : *Trypanosoma brucei*
T. b. brucei : *Trypanosoma brucei brucei*
T. b. gambiense : *Trypanosoma brucei gambiense*
T. b. rhodesiense : *Trypanosoma brucei rhodesiense*
TDR : test de diagnostique rapide
TgsGP : *Trypanosoma brucei gambiense-specificglycoprotein*
THA : trypanosomose humaine africaine
TLTF : *trypanosome released lymphocyte triggering factor*
TNF-α : *tumor necrosis factor-α*
TPM : tour par minute
VAT : type antigénique variant
VGM : volume glomérulaire moyen
VIH : virus de l'immunodéficience humaine
VPN : valeur prédictive négative
VPP : valeur prédictive positive
VS : vitesse de sédimentation
VSG : *variant surface glycoprotein*

Liste des tableaux

Tableau I : *classification de Trypanosoma sp* 15
Tableau II : *liste des 26 cas de trypanosomoses humaines africaines observés en France entre 1980 et 2004* 31
Tableau III : *signes et symptômes des THA chez les natifs en fonction de la phase et de la sous-espèce parasitaire incriminée* 32
Tableau IV : *signes cliniques et symptômes principaux en fonction du stade de la maladie au cours des THA* 34
Tableau V : *limites de détection trouvés pour différentes techniques de biologie moléculaire* 59
Tableau VI : *résumé du diagnostic de phase selon les critères de l'OMS 2013* 66
Tableau VII : *molécules usuelles disponibles pour le traitement des THA* 79
Tableau VIII : *effets secondaires des molécules usuelles disponibles* 80
Tableau IX : *cibles potentielles pour le développement de nouvelles molécules dans le traitement des THA* 81
Tableau X : *recommandations pour le traitement des THA d'après l'OMS 2013* 84
Tableau XI : *tableau des signes cliniques de Dan au cours de l'année 2013 avant et après son hospitalisation à Tours* 101
Tableau XII : *tableau des signes cliniques de Nadège au cours de l'année 2013 avant et apprès son hospitalisation à Tours* 102
Tableau XIII : *résultats biologiques sanguins de Dan AMB… avant son traitement (en vert premier jour de traitement)* 103
Table XIV : *résultats biologiques sanguins de Nadège AMB… avant son traitement* 103
Table XV : *PL itératives pré-diagnostiques de Dan avant traitement au cours de l'année 2013* 104
Table XVI : *PL itératives pré-diagnostiques de Nadège avant traitement au cours de l'année 2013* 104
Tableau XVII : *sérologie parasitaire de Dan (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière-Assistance publique des hôpitaux de Paris)* 107
Tableau XVIII : *détection des anticorps parasitaires dans le LCR de Dan (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance publique des hôpitaux de Paris)* 107
Tableau XIX : *sérologie parasitaire de Nadège (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance publique des hôpitaux de Paris)* 108
Tableau XX : *détection des anticorps parasitaires dans le LCR de Nadège (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance des hôpitaux publiques de Paris)* 109
Tableau XXI : *résultats biologiques sanguins de Dan avant et après son traitement (en vert : les valeurs pendant la durée du traitement)* 113
Tableau XXII : *profil évolutif de l'analyse cytologique et biochimique du LCR de Dan avant et après traitement* 114
Tableau XXIII : *sérologie parasitaire de Dan avant et après traitement* 115
Tableau XXIV : *valeur des cytokines de Dan avant et après traitement* 115
Tableau XXV : *résultats biologiques sanguins de Nadège avant et après traitement (en vert : les valeurs pendant lé durée du traitement)* 119
Tableau XXVI : *profil évolutif de l'analyse cytologique et biochimique du LCR de Nadège avant et après traitement* 120
Tableau XXVII : *sérologie parasitaire de Nadège avant et après traitement* 120
Tableau XXVIII : *évolution des anticorps dans le LCR de Nadège avant et après traitement* 121
Tableau XXIX : *valeur des cytokines de Nadège avant et après traitement* 121
Tableau XXX : *évolution de la concentration sanguine des anticorps anti-* β *2GP1 et anti-cardiolipide de Nadège avant et après traitement* 122

Liste des figures

Figure 1 : *classification des trypanosomes chez les mammifères* 15
Figure 2 : *forme trypomastigote "slender" de Trypanosoma sp (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie de Tours)* 17
Figure 3 : *schéma des différentes formes de Trypanosoma sp chez le diptère et l'hôte vertébré* 17
Figure 4 : *exemple de commutation antigénique* 18
Figure 5 : *schéma de la réponse immunitaire de l'Homme infecté par Trypanosoma sp* 20
Figure 6 : *représentation de Glossina sp* 21
Figure 7 : *photo de Glossina sp* 21
Figure 8 : *cycle parasitaire de Trypanosoma brucei* 22
Figure 9 : *représentation de Glossina sp* 23
Figure 10 : *atlas de la répartition des cas de THA entre 2000 et 2009* 26
Figure 11 : *risque infectieux à T. b. gambiense en Afrique centrale (2000-2009)* 28
Figure 12 : *risque infectieux à T. b. gambiense en Afrique de l'ouest (2000-2009)* 28
Figure 13 : *risque infectieux à T. b. rhodesiense en Afrique de l'est et du sud (2000-2009)* 29
Figure 14 : *le test CATT et ses accessoires* 44
Figure 15 : *photo des deux TDR commercialisés à ce jours* 48
Figure 16 : *principe du NASBA* 55
Figure 17 : *principe de la LAMP* 56
Figure 18 : *schéma de la méthode de l'ADN branché* 57
Figure 19 : *visualisation au microscope à fluorescence de parasites purifiés de T. b. rhodesiense marqués par des PNA fluorescents* 58
Figure 20 : *photo d'une centrifugeuse à microcapillaires* 62
Figure 21 : *schéma de trypanosomes dans la couche des leucocytes* 63
Figure 22 : *exemple d'arbre diagnostique* 71
Figure 23 : *schéma de l'état actuel d'avancement et de production prévue de différents outils diagnostiques* 72
Figure 24 : *exemple d'arbre diagnostic envisageable dans l'avenir* 72
Figure 25 : *structure de la suramine* 74
Figure 26 : *structure de la pentamidine* 75
Figure 27 : *structure du mélarsorpol* 76
Figure 28 : *structure du nifurtimox* 77
Figure 29 : *structure de l'éflornithine* 78
Figure 30 : *pourcentage d'utilisation des médicaments trypanocides pour le stade II de la THA à T. b. gambiense* 85
Figure 31 : *forme trypomastigote de Trypanosoma sp observée dans le LCR de Dan (état frais, x 400, Service de Parasitologie de Tours)* 93
Figure 32 : *forme trypomastigotev de Trypanosoma sp observée dans le LCR de Dan (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie de Tours)* 93
Figure 33 : *imagerie par résonnance magnétique (IRM) cérébrale axiale de Dan en T1 (à gauche) et T2 (à droite) le 3 juin 2013* 96
Figure 34 : *IRM cérébrale axiale T2 FLAIR de Nadège le 22 mars 2013* 98
Figure 35 : *forme trypomastigote de Trypanosoma sp visualisée sur le frottis sanguin de Dan le 25 juin 2014 (MGG, x1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)* 105
Figure 36 : *cellule mononuclée activée présente sur le frottis sanguin de Dan le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)* 106
Figure 37 : *forme trypomastigote de Trypanosoma sp visualiée sur la goutte épaisse de Dan le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)* 106
Figure 38 : *cellules lymphocytaires et une cellule de Mott (flèche rouge) présents dans le LCR de Nadège le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)* 108
Figure 39 : *évolution de la protidémie et de l'albuminémie dans le sang de Dan avant et après traitement* 112
Figure 40 : *évolution du profil des immunoglobulines dans le sang de Dan avant et après traitement* 113
Figure 41 *: dosage de l'activité de l'arginase de Dan et Nadège avant et après traitement* 116
Figure 42 : *IRM cérébrale axiale T2 de Dan avant traitement (gauche) et après traitement (droit)* 116
Figure 43 : *évolution des gammaglobulines, des IgA, des IgG et des IgM dans le sang de Nadège avant et après traitement* 118
Figure 44 : *IRM cérébrale axiale T2 FLAIR de Nadège avant traitement (gauche) et après traitement (droite)* 122

Introduction

De nombreuses pathologies infectieuses ont une répartition limitée aux zones tropicales du globe du fait d'une transmission obligatoire par des vecteurs uniquement présents dans ces zones tropicales. Cependant, l'augmentation des flux intercontinentaux suite aux voyages professionnels ou touristiques, ou suite à l'augmentation des réfugiés politiques ou économiques, conduit à être de plus en plus fréquemment confronté aux pathologies tropicales dans les pays du nord.
Si certaines de ces pathologies sont bien connues sous nos latitudes pour des raisons historiques et de fréquence de diagnostic, comme le paludisme (2171 cas d'importation en France en 2013(1)), ou à cause de tableaux cliniques spectaculaires comme les filarioses lymphatiques responsables d'éléphantiasis, d'autres restent moins connues.

Parmi elles, les trypanosomoses humaines africaines (THA), parasitoses transmises par la mouche tsé-tsé, sont des pathologies en principe limitées à la zone géographique du continent africain située entre le 14^{e} parallèle de latitude nord et le 20^{e} parallèle de latitude sud(2). On estime que 65 millions de personnes sont susceptibles d'être touchées par ces affections, plus connues sous le nom de « Maladie du sommeil »(3).
À la suite des flambées épidémiques du début du XXème siècle, la lutte contre ces THA en zones d'endémie a permis la décroissance du nombre de cas. Cependant, à cause de l'instabilité politique et sociale ayant suivi la période d'accession à l'indépendance des pays africains, la maladie du sommeil a regagné du terrain. Ceci a conduit à un cri d'alarme de l'OMS en 1997 pour que la lutte contre cette pathologie tropicale négligée reprenne et que la prévalence de la maladie diminue en zone d'endémie(3).
En ce début de XXIème siècle, des progrès évidents ont ainsi été réalisés dans les arbres diagnostiques menant de la suspicion clinique, à la confirmation du cas et de son stade, et enfin au traitement(4). Par ailleurs, dans les pays du nord, des outils diagnostiques plus performants et des techniques d'identification reposant sur la biologie moléculaire ont été développées(5).

En 2013, à Tours, le diagnostic de maladie du sommeil a été porté de manière fortuite chez une mère et son enfant après deux à trois ans d'évolution méconnue, et une transmission congénitale suspectée.

Grace aux informations biologiques disponibles à notre niveau et aux éléments cliniques présents dans les dossiers d'hospitalisation de ces deux patients, nous présentons ici la synthèse de ces deux cas cliniques originaux qui suscitent un grand nombre de questions.

En parallèle, et afin de tenter de répondre à ces questions, nous avons analysé dans la littérature les différents aspects de la maladie du sommeil et de sa prise en charge, en insistant tout particulièrement sur les outils de biologie ainsi que sur leur évolution dans le contexte épidémiologique actuel.

Enfin, dans la discussion, la confrontation des 2 cas cliniques aux données de la littérature nous permet d'essayer de mettre en lumière toute la difficulté que représente encore à l'heure actuelle la confrontation à cette maladie tropicale négligée, d'autant plus en dehors des zones d'endémie.

I RAPPEL

I.A Epidémiologie des Trypanosomoses Humaines Africaines (THA)

I.A.1 Histoire de l'évolution épidémiologique

Les THA sont des maladies anciennes comme l'atteste la première description connue de ce qui semble être la maladie du sommeil par Ibn Khaldoum à la fin du XIV^{ième} siècle. Il décrit la mort du sultan du Mali Mari Djata II à la fin d'un mal ayant entrainé un état léthargique. Par la suite d'autres descriptions plus détaillées de la maladie sont faites sur des esclaves africains au XVIII^{ième} et XIX^{ième} siècle(2).

C'est le biologiste britannique David Bruce, en 1895, qui connecte en premier la maladie Nagana aux glossines chez les animaux et qui identifie le trypanosome comme responsable de la maladie. Il a donné son nom à *Trypanosoma brucei* (*T. brucei*)(6).

Au début du XX^{ième} siècle deux maladies différentes étaient connues chez l'Homme : la fièvre à trypanosome et la maladie du sommeil. En 1901 Forde met en évidence des « vermicules mobiles » chez un marin atteint de fièvre cyclique. Ce n'est qu'en 1902 que le parasite est nommé *Trypanosoma gambiense* par Dutton(7). La même année, Castellani observe le parasite dans le LCR d'un patient sommeilleux. La maladie est unifiée en 1904 par Manson.(6)

La transmission cyclique de la maladie est décrite en premier en 1910 lors des expériences de Kleine qui réussit à infecter des animaux via une glossine(2).

La première grande épidémie ou plutôt série d'épidémies de THA a eu lieu entre 1896 et 1906. Une de ces épidémies particulièrement sévère a eu lieu en 1896 au Congo français et en République Centrafricaine (RCA), le long des rivières. D'autres épidémies meurtrières ont eu lieu en Ouganda en 1901 puis Soudan et Tanzanie en 1905. La colonisation a certainement fortement contribué au développement de ces épidémies. En effet, la colonisation des pays africains a modifié les habitudes ancestrales des tribus avec l'augmentation de la migration des populations, la déforestation et l'expansion des territoires habités vers des zones d'habitation des mouches tsé-tsé. Les troupeaux de bétails puis les animaux sauvages, touchés par la peste bovine introduite par les colonisateurs, ont été décimés ce qui a forcé les mouches tsé-tsé à changer de source de nourriture(8).

La deuxième grande épidémie est survenue entre les deux guerres dans différents pays d'Afrique subsaharienne(2).

Dès 1916, Eugène Jamot lutte contre les THA. Il dépiste les populations et les traite comme en Ubangi-

shari au nord du Congo français. En 1922, il est muté au Cameroun et met en place un système d'équipes mobiles permanent(8).

La lutte contre les THA est basée sur les « postulats » suivants :

- dépistage de la population et traitement des malades, afin de contrôler le réservoir. Ce système de lutte suppose une approche efficace des populations concernées et une formation du personnel ;
- réduction des foyers de glossines via la lutte anti-vectorielle.

Entre 1960 et 1965, la maladie du sommeil avait presque disparu. Les équipes mobiles ont permis un contrôle de la maladie, avec environ 4 000 cas annuels de THA signalés dans les années 1960 en Afrique(9).

Puis les guerres civiles, la pauvreté, le déplacement des populations ainsi que le désintérêt mondial sont autant de facteurs qui ont permis la réémergence de la maladie. La surveillance de la maladie a diminué et les risques de transmission ont augmenté. À partir des années 1970, des épidémies réapparaissent, pour atteindre des sommets dans le milieu des années 1990(3). La recherche mondiale ne montrait que peu d'intérêt face à la maladie, à l'exception, en France, de quelques laboratoires universitaires dont ceux de Bordeaux, Grenoble et Limoges et de l'Institut pour la Recherche et le Développement (IRD)(10), organisation unique en Europe dont les axes de recherche étudient les relations entre l'Homme et son environnement notamment dans les zones tropicales afin d'aider au mieux ces pays dans leur développement social, culturel et économique.

En 1995, 40 000 cas sont diagnostiqués mais les estimations font état de 300 000 infections dont de nombreuses sont passées inaperçues par manque de moyens diagnostiques(9). En 1997, lors de la 50^{ième} assemblée mondiale de la santé, l'organisation mondiale de la santé (OMS) lance un premier signal d'alarme qui passe inaperçu(11).

Ce n'est qu'en 2001 qu'une subvention de 25 millions de dollars, accordée par le Laboratoire pharmaceutique Aventis, permet de recommencer la lutte en reformant des équipes, en fournissant des médicaments et en relançant la recherche.

La même année, les chefs d'état de l'Organisation de l'Union Africaine(12), réunis à Lomé au Togo, lancent une campagne panafricaine d'éradication de la mouche tsé-tsé et des trypanosomes et créent une cellule chargée de coordonner et d'élaborer le plan d'action du PATTEC (*Pan-African Tsetse and Trypanosomosis Eradication Campaign)*(13)(14).

Puis l'année d'après, un programme OMS d'élimination de la maladie du sommeil voit le jour.

Des campagnes de dépistage de masse, comprenant le déplacement d'équipes mobiles dans les différents foyers de présence des THA, sont mises en place avec l'aide combiné des organisations non gouvernementales (ONG) et des structures locales gouvernementales.

C'est donc grâce à l'effort conjoint d'ONG, de l'OMS et des programmes de lutte nationaux africains, que la maladie régresse actuellement.

L'OMS note une baisse de 73% du nombre de cas entre 2001 et 2010, avec moins de 10 000 nouveaux cas notifiés en 2009(3). Grâce à la diminution de la prévalence de la maladie, l'OMS considère aujourd'hui que la maladie du sommeil est sous contrôle. Le dépistage de masse diminue au profit du dépistage passif avec le déplacement de personnes potentiellement sommeilleuses dans des dispensaires locaux ou des hôpitaux de district(15). L'OMS a donné en 2012 des objectifs à court terme et prévoit que la maladie ne sera plus un problème de santé publique en 2020 et sera éradiquée en 2030(16).

I.A.2 Le parasite

I.A.2.a Classification du parasite

Le parasite, transmis à l'Homme par la piqûre d'un invertébré, est un protozoaire, eucaryote unicellulaire, hétérotrophe, sanguicole de l'ordre des Kinétoplastidés, de la famille des *Trypanosomatidae* et du genre *Trypanosoma* (Tableau I et Figure 1). Il tire son nom du grec *trupanon* sorte de tire-bouchon qui fait référence à sa forme. Le sous genre *Trypanozoon* comprend les espèces *Trypanosoma equiperdum*, *Trypanosoma evansi* qui sont pathogènes chez les animaux et *T. brucei* séparé en trois sous-espèces : *Trypanosoma brucei brucei* (*T. b. brucei*), *Trypanosoma brucei gambiense* (*T. b. gambiense*) et *Trypanosoma brucei rhodesiense* (*T. b. rhodesiense*) (Figure 1) (3).

Il existe une vingtaine d'espèces infectants les vertébrés et responsables de trypanosomoses. Citons comme exemple la trypanosomose des oiseaux dont le parasite responsable est *Trypanosoma avium* ou encore la maladie Nagana des chevaux et du bétail, dont les ruminants domestiques tels les bœufs, chèvres et moutons. Cette dernière, aussi appelée trypanosomose animale africaine, est due à plusieurs espèces de trypanosomes, dont *T. brucei* sous espèce *T. b. brucei* inoculé par le même diptère que celui transmettant la maladie du sommeil à l'Homme.

Les deux seuls trypanosomes qui infectent l'Homme sont *Trypanosoma cruzi* qui donne la maladie de Chagas et enfin, le parasite dont nous allons parler dans ce travail, *Trypanosoma brucei* dont deux de ses sous-espèces sont responsables de la maladie du sommeil à savoir *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense.* Les autres espèces de *Trypanosoma* ne peuvent induire d'infection chez l'Homme en raison de la présence d'un facteur de lyse du trypanosome (FLT)(17). En effet, il existe un FLT dans le sang humain auquel seul les deux sous-espèces, responsables de la maladie du sommeil chez l'Homme, sont résistantes.

Tableau I : classification de *Trypanosoma* sp (d'après (18))

Embranchement	Sous-embranchement	Super-classe	Classe	Sous-classe	Exemple
SARCOMASTIGOPHORES	Mastigophores= flagellés		zoomastigophores		*Trypanosoma* *Leishmania* *Trichomonas*
	Opalinates				Opalines
	Sarcodites	Rhizopodes			
		Actinopodes			
APICOMPLEXES			Sporozoaires	Grégarines	
				Coccidies	*Plasmodium falciparum* *Toxoplasma*
CILIOPHORES = CILIÉS					
MYXOZOAIRES					

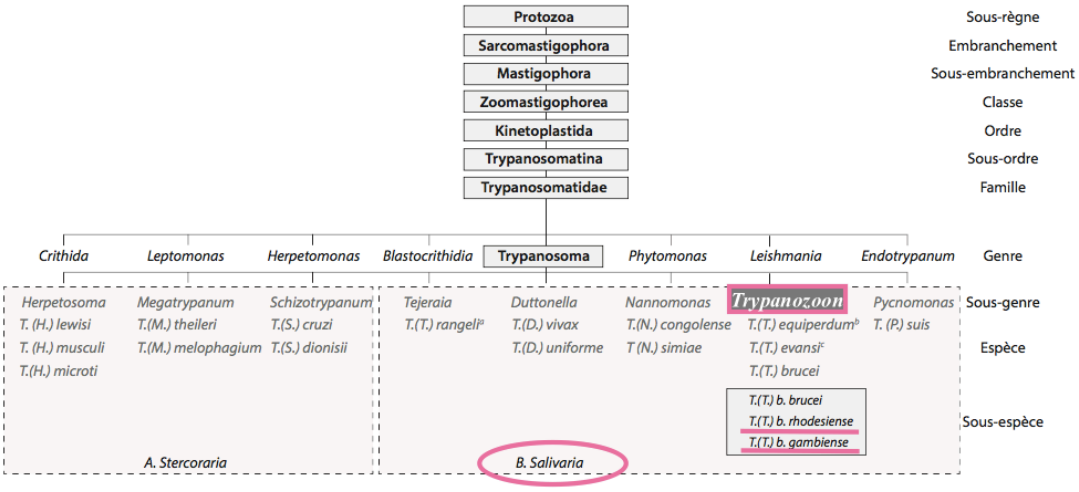


Figure 1 : classification des trypanosomes chez les mammifères (d'après (3))

I.A.2.b Les deux agents des THA

Comme nous venons de l'évoquer au chapitre précédent, deux sous-espèces de trypanosomes sont responsables de la maladie du sommeil et donc pathogènes pour l'Homme : *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense*. Leur transmission est vectorielle et ils appartiennent à la section dite salivaire des *Trypanosoma* car ils se transmettent par la salive des mouches lors de leur piqûre.

Elles sont responsables de deux tableaux cliniques différents de la même maladie et, bien que localisées exclusivement sur le continent Africain, elles se retrouvent à deux endroits différents. Nous le développerons dans les chapitres suivants.

Afin de traiter au mieux les patients et d'utiliser les arbres diagnostiques adéquats, spécifiques de la sous-espèce pour augmenter la sensibilité des tests, il est nécessaire de pouvoir les différencier. Malheureusement, elles ne sont pas morphologiquement distinguables l'une de l'autre, et seules des techniques complémentaires permettent de savoir à quelle sous-espèce on a affaire. Le test de son pouvoir pathogène par inoculation à des souris après incubation *in vitro* avec du sérum humain a été

supplanté par des techniques d'électrophorèse des iso enzymes et des techniques de biologie moléculaire(19)(20). Ces dernières sont en cours de développement.

T. b. brucei espèce non pathogène pour l'Homme, n'est pas reconnaissable en microscopie des deux autres sous espèces citées ci-dessus. Un test de résistance au sérum humain permet de s'assurer que les deux autres sous espèces de *Trypanozoma brucei* pathogènes pour l'Homme ne sont pas incriminées. Ce test consiste à observer la croissance du parasite *in vitro* incubé dans un milieu de culture à base de sérum humain non infecté par les THA. Grâce au FLT du sérum humain dont nous avons parlé précédemment, seules les deux sous-espèces pathogènes pour l'homme pourront croître. L'utilisation de cette technique peut s'avérer utile notamment si l'on suspecte l'implication de *T. b. rhodesiense* qui reste difficile à différencier de *T. b. brucei* par biologie moléculaire ou analyse enzymatique et ce d'autant plus qu'il existe plusieurs sous-espèces de *T. b. brucei* dans les régions infectées par *T. b. rhodesiense*(21).

Pour différencier les deux sous-espèces pathogènes pour l'Homme, l'étude morphologique des parasites n'est pas contributive. En plus du tableau clinique et de la répartition géographique qui permettent d'orienter sur la sous-espèce en cause, des techniques de biologie moléculaire, que nous reverrons par la suite, sont disponibles pour différencier les deux parasites.

T. b. gambiense se divise en deux groupes. Le groupe I qui exprime un marqueur moléculaire spécifique (*T. b. gambiense-specific glycoprotein,* TgsGP), aussi utilisé pour son identification, et le groupe 2 où ce gène spécifique n'est pas retrouvé(22). Le groupe I donne la forme chronique de la maladie. L'implication du type II de *T. b. gambiense* en pathogénicité humaine n'est pas établie avec certitude mais il serait responsable d'un tableau clinique aigu qui ressemblerait à celui engendré par *T. b. rhodesiense.* Il a été isolé pour la dernière fois chez des patients en 1992(23).

T. b. rhodesiense se divise en deux groupes selon sa localisation. Le groupe Busoga qui est responsable de la forme aiguë décrite le plus fréquemment et le groupe Zambie à l'origine d'une forme clinique moins aiguë de la maladie(2).

I.A.2.c Morphologie et localisation chez son hôte vertébré

Trypanosoma brucei est un eucaryote dont le matériel génétique est 100 fois moins abondant que celui de l'Homme, avec 25 millions de bases. Dans le sang de son hôte, on le retrouve sous forme fusiforme trypomastigote. Il mesure entre 12 µm à 42 µm de long sur 1,5 µm à 3,5 µm de large (Figure 2). Le trypomastigote se rencontre sous plusieurs formes dans le sang humain. Une forme de réplication dite « *Slender* », longue, et une forme de non division dite « *Stumpy* », plus trapue que la précédente, et ne possédant pas de flagelle libre (Figure 3). Le flagelle part du corps basal, en arrière du parasite, puis passe sous la membrane ondulante et, pour la forme « *Slender* », se prolonge par un flagelle libre de 6 µm(24).Entre ces deux formes, on rencontre des formes dites intermédiaires.

Le deuxième organite contenant de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est le kinétoplaste, en position terminal. C'est un ADN extranucléaire qui contient l'ADN mitochondrial (Figure 2). L'ADN mitochondrial circulaire se présente sous deux formes, des maxi-cercles de 20 kb et des mini-cercles de 1 à 2 kb. Les maxi-cercles codent pour les protéines mitochondriales et les mini-cercles sont des acides ribonucléiques (ARN) guides. Ce sont de petits éléments utiles qui, en modifiant l'ADN du parasite lors de sa transcription par ajout de résidus-U, servent au processus de production de l'ARN (25).

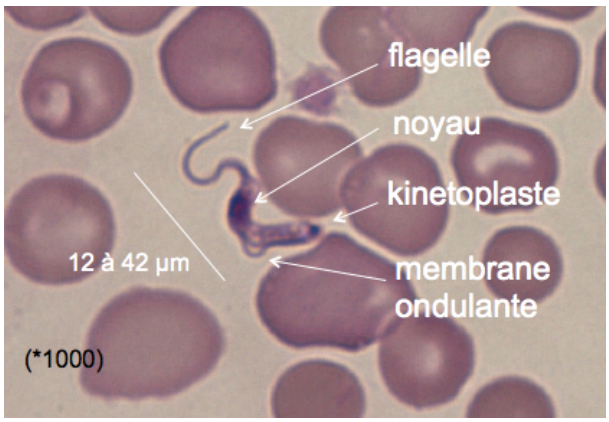


Figure 2 : forme trypomastigote "*slender*" de *Trypanosoma* sp (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie de Tours)

Trypanosoma est un parasite très mobile grâce à son flagelle. On peut le retrouver dans les liquides extracellulaires des hôtes vertébrés qu'il infecte : le sang, les ganglions ou le Liquide Céphalo-Rachidien (LCR), et ceci en fonction du stade de la maladie pendant lequel sont faites les recherches diagnostiques.

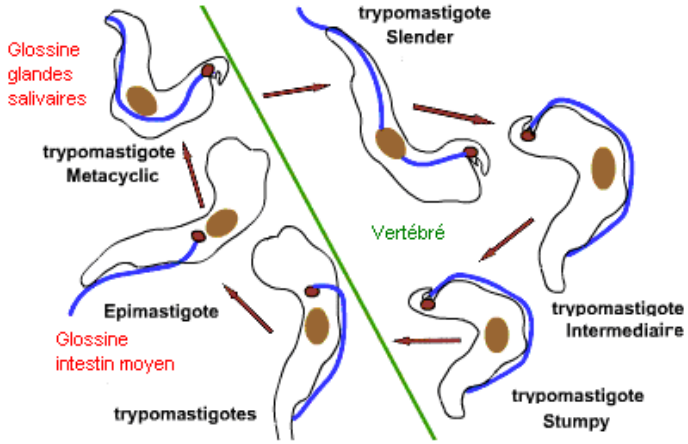


Figure 3 : schéma des différentes formes de *Trypanosoma* sp chez le diptère et l'hôte vertébré (d'après (26))

La biologie cellulaire du trypanosome est très différente de celle des hôtes vertébrés qu'il infecte(27). De nombreuses recherches se focalisent sur ces particularités pour développer des traitements ciblant spécifiquement le parasite. Ces recherches n'ont, pour le moment, pas abouties.

À la surface des trypanosomes, on retrouve un manteau de glycoprotéines qui se modifie très fréquemment. La variation antigénique que ces glycoprotéines, aussi appelées *Variant Surface Glycoproteins* (VSGs), changent les épitopes accessibles par le système immunitaire de l'hôte trypanosomé. Cette variation a lieu au moyen de recombinaisons ou par commutation antigénique entre les gènes codant pour les VSGs, qui sont très nombreux, ou par phénomène de modification lors de la transcription (Figure 4). Le grand nombre de gènes codant pour les VSGs lui permet un grand nombre de variation antigénique. Ces VSGs déterminent le type antigénique variant (VAT) du clone de trypanosome qui induit la production d'anticorps (Ac) spécifiques protecteurs chez l'hôte sommeilleux(28). Ces VSGs sont très antigéniques et le fait de remplacer un épitope par un autre permet au trypanosome d'échapper à la réponse immunitaire que l'hôte a déjà initiée. Ainsi, l'hôte n'arrive pas à développer de réponse immunitaire adaptative efficace. Des vagues de parasitémie se succèdent et ce après chaque émergence d'un nouveau variant antigénique. C'est de la forme « *Stumpy* » qu'émerge les nouveaux variants antigéniques (Figure 4)(29).

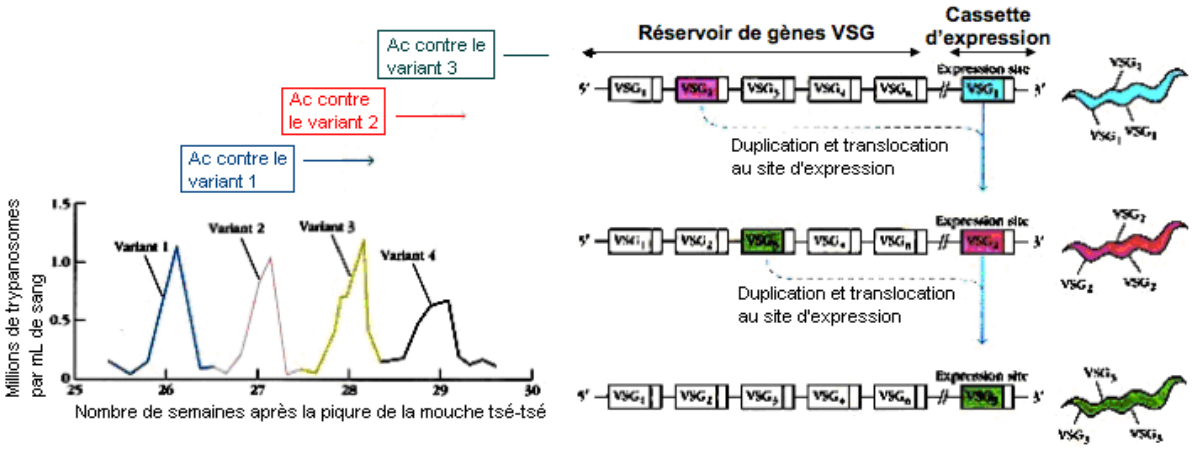


Figure 4 : exemple de commutation antigénique (d'après (30))

Ce phénomène a aussi des conséquences en thérapeutique, car cette variabilité antigénique empêche la mise au point d'un vaccin efficace.

Le système immunitaire de l'hôte étant stimulé sans discontinuer par les épitopes des VSGs, une inflammation chronique s'installe avec production de cytokines pro-inflammatoires de manière excessive et prolongée, et apparition d'auto-anticorps (auto-Ac) par définition non protecteurs(31)(20). La dysrégulation du système immunitaire de l'hôte infecté entraine une immunodépression avec des infections opportunistes possibles. Dans le mécanisme de l'immunosuppression observée chez l'hôte infecté, intervient une immunodépression des lymphocytes B spécifiques des trypanosomes avec en particulier une réduction des anticorps spécifiquement dirigés contre les antigènes des trypanosomes. Une diminution de production d'Interleukine-2 (Il-2) et d'expression de récepteurs à l'Il-2 sur les cellules T a été mise en évidence sur plusieurs modèles(32).

I.A.3 Réponse immunitaire chez l'hôte vertébré

Les trypomastigotes, entrainent la génération d'une réponse immunitaire chez l'hôte vertébré qui est axée sur deux mécanismes principaux : la production d'Ac et l'activation des macrophages. Le parasite se sert de cette réponse immunitaire et la détourne à son avantage pour continuer à se développer et atteindre le système nerveux central (SNC).

I.A.3.a Rôle des anticorps

L'activation de la réponse immunitaire humorale permet la production, par les lymphocytes B, d'Ac essentiellement de type M qui permettent, *via* la voie du complément, une réponse non spécifique aboutissant à la lyse du parasite.

Le changement fréquent de ses protéines de surface, appelé variabilité antigénique, comme expliqué dans le chapitre I.A.2.c « Morphologie et localisation chez son hôte vertébré » permet au trypanosome d'échapper périodiquement à la lyse du complément.

Ces protéines VSGs induisent la production, par l'hôte, d'auto-Ac anti-tryptophane *like* qui sont dirigés contre le SNC, que ce soit des auto-Ac anti-galactocérébroside dirigés contre la myéline, ou des auto-Ac anti-neurofilament dirigés contre les neurones (Figure 5). Grâce aux épitopes des VSGs, de nombreux autres auto-Ac sont produits par le système immunitaire de l'hôte.

Il est communément admis que le parasite n'atteint pas le SNC du vertébré dès le début de l'infection. La production excessive et prolongée, grâce aux VSGs, de *TumorNecrosis Factor*-α (TNF-α) lors de la réponse immunitaire provoque une inflammation qui favorise le passage des Ac dans le SNC (Figure 5). Une fois passés la barrière hématoencéphalique (BHE), les auto-Ac anti-myéline et anti-neurone attaquent la matière cérébrale de leur hôte entrainant une démyélinisation. La phase clinique de polarisation cérébrale peut commencer appelée aussi phase II neurologique. Nous verrons dans le chapitre I.B.3 « Développement en deux stades cliniques » que de nouvelles théories ont vu le jour.

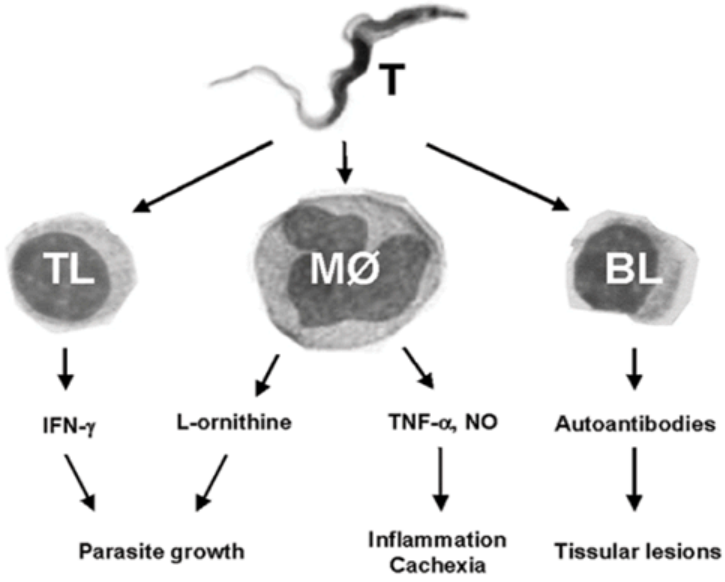
D'autres Ac retrouvés dans le LCR sont produits *in situ* comme nous reverrons dans la suite de ce travail(32).

I.A.3.b Rôle des macrophages

Lors de la réponse immunitaire, les macrophages prolifèrent et se retrouvent dans les différents tissus. Ils produisent des facteurs pro-inflammatoires, le monoxyde d'azote (NO) et le TNF-α, dont nous avons parlé ci-dessus (Figure 5).

Ces macrophages permettent aussi, par l'hydrolyse de la L-arginine en L-ornithine par l'arginase, la production de facteurs essentiels à la croissance et à la survie du *Trypanosoma* comme nous le reverrons au chapitre I.D.3.d.iv (Figure 5).

Si le rôle central des macrophage est certain, les lymphocytes T ont aussi leur importance puisque leur stimulation par un facteur synthétisé par le trypanosome, le *Trypanosome released lymphocyte triggering factor* (TLTF), permet la production d'interféron γ (IFN-γ) qui joue un rôle majeur dans la prolifération du parasite.



(T : trypanosome, TL : lymphocytes T, MØ : macrophage, BL : lymphocyte B, IFN-γ : Interféron γ)

Figure 5 : schéma de la réponse immunitaire de l'Homme infecté par *Trypanosoma* sp (d'après(32))

Les trypanosomes induisent la sécrétion de différents composants par les cellules immunitaires. En plus de leur effet trypanocide, ces molécules sont aussi impliquées dans des mécanismes délétères pour les tissus de l'hôte et/ou des effets bénéfiques sur la croissance du parasite.

I.A.4 Le vecteur diptère hématophage = la mouche tsé-tsé

La mouche tsé-tsé est un diptère hématophage vivipare diurne appartenant au genre *Glossina*. On dénombre 31 espèces et sous-espèces du genre *Glossina* répartis en trois groupes en fonction de leurs habitats : *Glossina fusca* (forêts), *Glossina palpalis* (rivières et forêts) et enfin *Glossina morsitans* (savanes)(33).

Glossina palpalis comprend neuf espèces dont *Glossina palpalis gambiense*.

Son surnom de mouche tsé-tsé lui vient de tribus d'Afrique qui l'on nommée ainsi par onomatopée avec le bruit du frottement de ses ailes lors de son vol. C'est une mouche de grande taille de 6 à 15 mm de longueur (Figure 6 et Figure 7).

La glossine est attirée par les couleurs bleues, blanches, noires et les contrastes de couleur. En revanche, elle évite le vert, le jaune et le rouge. Les odeurs de mammifère l'attirent, que ce soit l'urine, les excréments, la sueur, les poils ou l'haleine.

La première ovulation de la femelle la rend inféconde aux accouplements ultérieurs.

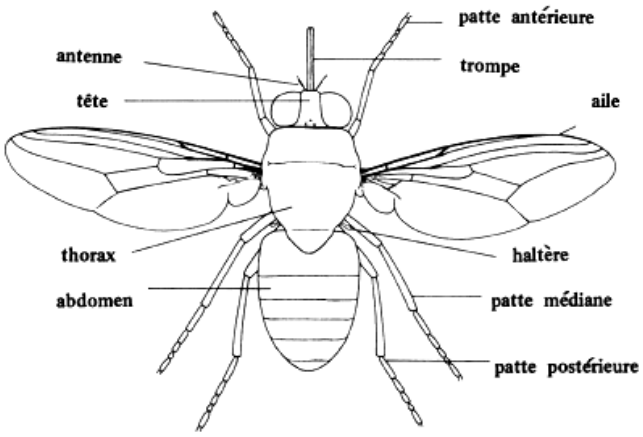


Figure 6 : représentation de *Glossina* sp (d'après (34))

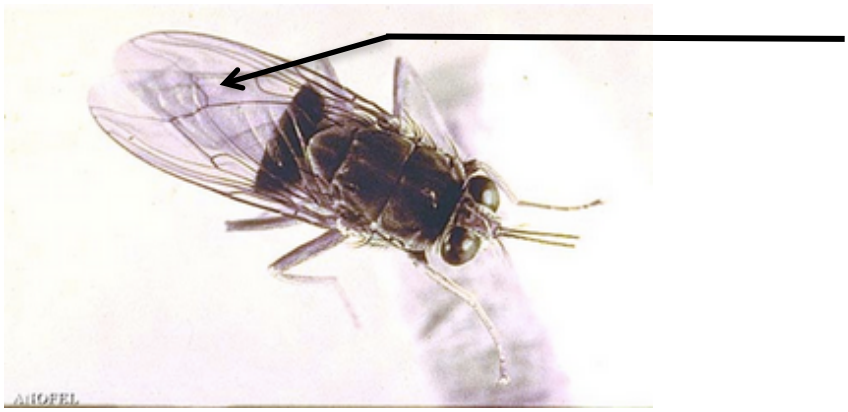


Figure 7 : photo de *Glossina* sp (d'après (35))

On retrouve les glossines sur toute la zone tropicale du continent africain que l'on nomme la « tsé-tsé belt ». Chaque espèce ou sous-espèce de glossine est vectrice d'espèces ou sous-espèces préférentielles de trypanosomes, et se nourrit sur des hôtes vertébrés privilégiés : l'Homme ou éventuellement les porcs pour *Glossina palpalis,* et l'Homme voire les antilopes et d'autres animaux sauvages tels le lion, mais aussi les cochons ou d'autres animaux domestiques pour *Glossina morsitans*.

Les zones où l'on retrouve la glossine combinent obligatoirement 4 facteurs principaux : une température comprise entre 25°C et 30°C, la présence de zones ayant une forte humidité et un ombrage adéquats et enfin la présence de nourriture pour ces diptères. La mouche tsé-tsé vit donc dans des régions bien délimitées d'Afrique entre deux lignes : entre le 14ème parallèle Nord et le 20ème parallèle Sud au nord du désert du Kalahari(3).

Son habitat comprend obligatoirement de l'eau douce, que la mouche soit hygrophile et se retrouve dans les rives des lacs et berges des rivières comme au niveau des mangroves de Guinée, ou xérophile dans la savane arborée du Burkina-Faso.

On observe une recrudescence des cas de THA un à trois mois après la saison des pluies lorsque la population de glossine augmente et après l'intervalle de temps nécessaire à l'infection des humains.

C'est la même espèce de mouche qui transmet la maladie Nagana.

Lorsqu'infectée, la mouche est « malade », comme on le décrit au chapitre suivant, et le reste toute sa vie. Mais les conditions de développement du parasite chez la glossine sont strictes, et seule une faible proportion des mouches sont porteuses de parasites infectants pour le vertébré. Ce chiffre est estimé à 0.1% pour *T. b. gambiense*(36)(37).

Le mâle et la femelle peuvent être porteurs du parasite et transmettre la maladie.

On comprend donc qu'en fonction de la sous-espèce de trypanosome, il existe des facteurs de risque de transmission de la maladie du sommeil qui dépendent de la présence des trois acteurs du cycle parasitaire: la mouche tsé-tsé, le réservoir animal et l'Homme.

I.A.5 Cycle parasitaire

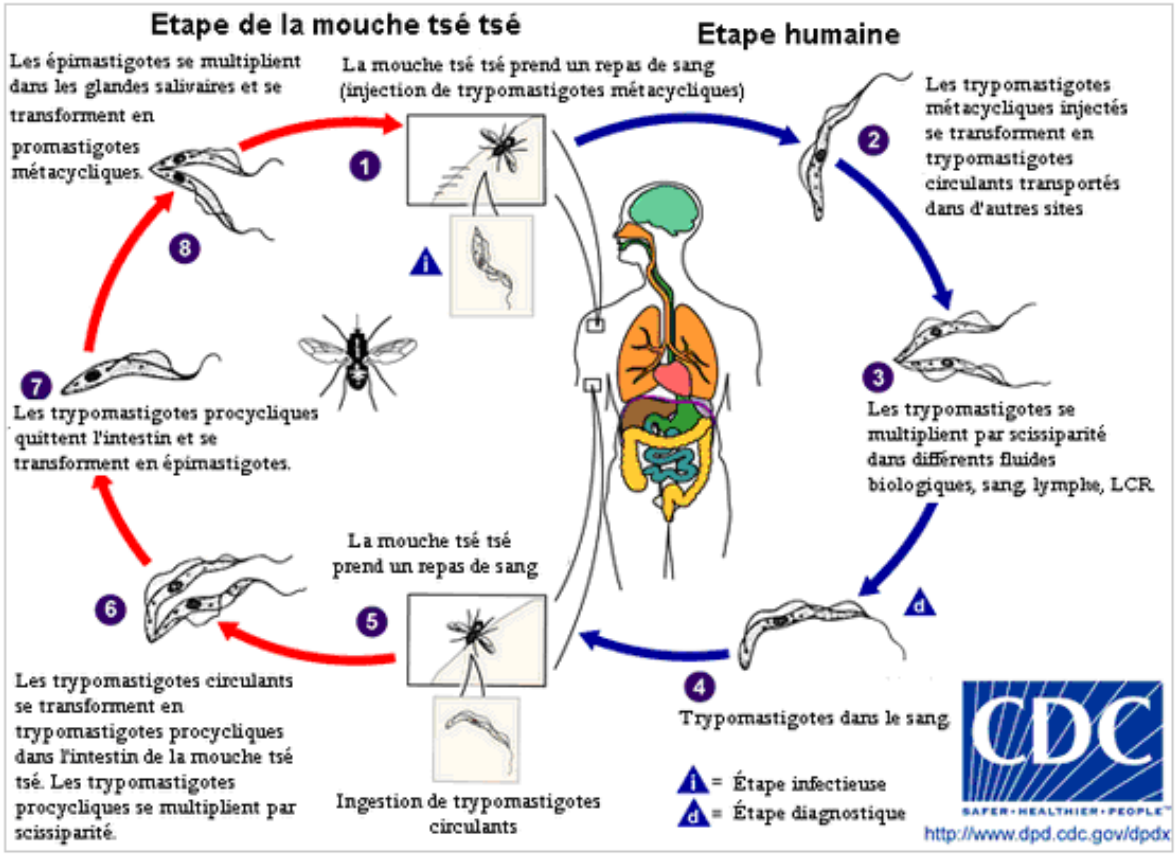


Figure 8 : cycle parasitaire *de Trypanosoma brucei* (d'après (38))

La glossine s'infecte au cours d'un repas sur un vertébré porteur dans son sang du *Trypanosoma* (Figure 8 étape 5). Les trypanosomes sous formes trypomastigotes trapues ou « *stumpy* » sont les seules formes infectantes pour la glossine. Les conditions de développement du parasite chez la glossine sont strictes ; par exemple, les lectines intestinales de la glossine empêchent la maturation du stade trypomastigote à procyclique du parasite. Lorsque les parasites affluent en trop grande quantité dans l'intestin du vecteur

ou lorsque les lectines sont encore immatures chez la jeune mouche tsé-tsé, rien n'empêche la maturation du trypanosome. Ils traversent la tunique intestinale de la glossine et cheminent de son jabot à son intestin moyen sous forme procyclique (Figure 8 étape 6 et Figure 9).

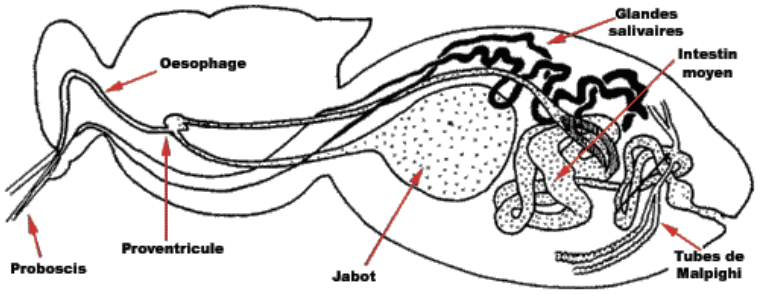


Figure 9 : représentation de *Glossina* sp (d'après (10))

La forme procyclique est plus allongée que la forme « *stumpy* ». Le parasite subit quelques transformations. Il perd son manteau de glycoprotéines par glycolyse et grâce à son fort taux de réplication, le parasite va finalement coloniser les glandes salivaires de la glossine où il va se fixer au revêtement muqueux. Le trypanosome prend alors une forme épimastigote (Figure 8 étape 7 et Figure 3).

La glossine est « malade », il y a transformation de sa salive qui devient laiteuse. La mouche tsé-tsé, même si elle ne transmet pas le trypanosome à sa descendance, est ralentie mais ne meurt pas.

C'est au niveau des glandes salivaires du diptère que le trypanosome devient métacyclique et reprend une forme trypomastigote qui sera infectante pour l'Homme (Figure 8 étape 8). La forme métacyclique du parasite subit, entre autre, une transformation de ses protéines de surface ce qui lui permet de se détacher de la muqueuse des glandes salivaires et de rejoindre le canal alimentaire où elle attend le prochain repas de la glossine pour infecter son hôte vertébré.

Le cycle évolutif chez la glossine dure de 2 semaines à un mois en fonction de la température extérieure(39).

Il peut arriver qu'il y ait reproduction sexuée entre les trypanosomes chez les diptères. Ceci leur permet des échanges génétiques importants favorisant une évolution rapide et leur permet aussi entre autre des échanges de gènes codant pour des résistances médicamenteuses(40).

Le rythme de ponte larvaire efficace chez la glossine femelle, qui suit habituellement son repas sanguin, devient de moins en moins rapide : les trypanosomes, qui oblitèrent la trompe du diptère, diminuent le rendement des repas et l'obligent à se nourrir de manière plus fréquente. Avec l'augmentation du nombre de repas de la glossine infectante, s'ensuit une augmentation de la transmission des parasites à l'Homme. À chaque repas le trypanosome est injecté par centaine (Figure 8 étape 1).

Au point d'inoculation de l'hôte vertébré les formes métacycliques deviennent grêles et se multiplient pour ensuite gagner le système sanguin et lymphatique (Figure 8 étapes 2, 3 et 4). Cela correspond en

clinique à la phase lymphatico-sanguine. La parasitémie, c'est-à-dire la charge parasitaire sanguine, avec la sous-espèce *T. b. gambiense* est généralement plus faible qu'avec la sous-espèce *T. b. rhodesiense*, ce qui peut mettre les méthodes diagnostiques microscopiques en défaut.

I.A.6 Modes de transmission

I.A.6.a Transmission par piqûre de la glossine

C'est le mode de transmission principal qui entraîne l'apparition d'un chancre d'inoculation au site de la piqûre.

D'autres modes de contamination, beaucoup moins fréquents que l'inoculation par le diptère, ont été décrits.

I.A.6.b Transmission verticale

Le passage transplacentaire du parasite *T. b. gambiense* a déjà été impliqué dans des cas de trypanosomose congénitale(41).

I.A.6.c Inoculation par voie sanguine

Théoriquement, ce mode de contamination comprend les transfusions sanguines et les transplantations d'organes de donneurs infectés. À notre connaissance, il n'y a pas encore eu de cas signalés avec ce mode de transmission.

En revanche, des cas d'accidents de laboratoire ont été décrits(42)(43).

I.A.6.d Transmission par voie sexuelle

Ce mode de contamination a été rapporté chez une femme n'ayant jamais séjourné dans une zone à risque. Son partenaire était connu pour avoir la maladie du sommeil(44).

I.A.6.e Inoculation par un autre vecteur

Cette hypothèse a été mise en avant au début du XX^{ème} siècle pour expliquer ce que l'on appelait alors : les « épidémies de cases » touchant des zones de village particulières. Des vecteurs mécaniques hématophages, autre que les glossines, ont été mis en avant dont des moustiques du genre *Mansonia*(45).

L'existence de tels vecteurs permettrait aussi d'expliquer la présence de foyers de THA sans glossine retrouvée dans la zone incriminée(46).

I.A.7 Situation actuelle et répartition géographique

I.A.7.a Nombre de cas de THA

La population susceptible d'être piquée par des glossines porteuses des parasites se chiffre à 65 millions de personnes, habitant toutes en Afrique, selon un rapport de l'OMS(3). En 2006, l'OMS estimait le nombre de cas de THA entre 50 000 et 70 000 malades(47).

Selon les chiffres de l'OMS, 36 pays d'Afrique subsaharienne ont déclarés des cas de THA(48):

- Au cours des dix dernières années, la République Démocratique du Congo (RDC) a déclaré 70 % des cas et 89% des cas sur la seule année 2013 ;
- Au second rang, on trouve le Tchad et le Soudan du Sud qui comptent chacun entre 100 et 200 nouveaux cas en 2013, la République Centrafricaine (RCA) devrait être classée aussi au second rang mais des troubles socio-politiques n'ont pas permis de récolter les chiffres ;
- Puis, avec moins de 100 cas par an en 2013, l'Angola, le Cameroun, le Congo, la Côte d'Ivoire, le Gabon, le Ghana, la Guinée, la Guinée équatoriale, le Malawi, le Nigéria, l'Ouganda, la République-Unie de Tanzanie, la Zambie et le Zimbabwe suivent ;
- Les autres pays d'Afrique ne sont plus épidémiques et aucun nouveau cas n'y a été signalé en dix ans. Cela concerne, le Bénin, le Botswana, le Burkina Faso, le Burundi, l'Éthiopie, la Gambie, la guinée Bissau, le Kenya, le Liberia, le Mali, le Mozambique, la Namibie, le Niger, le Rwanda, le Sénégal, la Sierra Leone, le Swaziland et le Togo.

Ces chiffres doivent être néanmoins interprétés avec réserve. En effet, ce ne sont que des tendances et dans de nombreuses régions, il est difficile d'établir avec certitude le nombre de cas.

La création d'un atlas des THA permet de mieux analyser la répartition géographique, dans l'espace et dans le temps, en incluant des données géographiques et environnementales. Cet atlas a été dessiné en se basant sur des données récupérées par des états membres de l'OMS, en association avec la *Food and Agriculture Organization of the united nations* (FAO)(49) qui a pour but d'éliminer la faim dans le monde en diminuant la pauvreté, en assurant un progrès économique et social pour tous. Il permet d'estimer la taille et la localisation des populations à risque. Cette population à risque est plus facilement estimée en ce qui concerne le risque de contracter *T. b. gambiense* que *T. b. rhodesiense.* En effet, l'existence d'un réservoir animal pour *T. b. rhodesiense* rend difficile l'estimation du risque.

Cet atlas est en continuel changement avec des mises à jour prévues périodiquement (Figure 10).

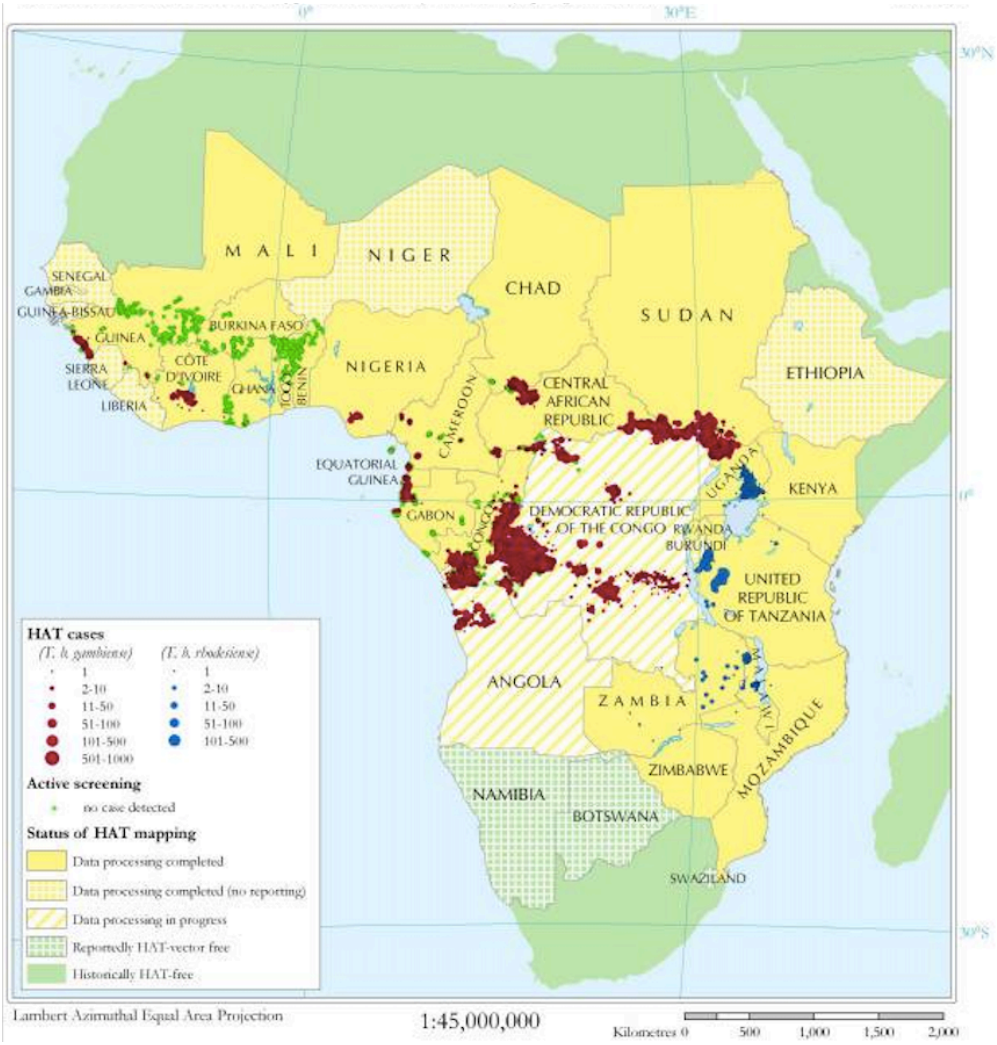


Figure 10 : atlas de la répartition des cas de THA entre 2000 et 2009 (d'après (50))

Pour chaque pays, la fin de l'analyse des données est considérée comme complète quand toutes les données sur la période 2000-2009 ont été analysées et incluses dans la base de données.

Retenons que sept Pays comptent 97% des cas : l'Angola, le Congo, l'Ouganda, la RDC, la RCA, le Soudan du Sud et le Tchad. L'Ouganda est le seul pays où les deux formes de maladie du sommeil, que nous développerons par la suite, dans le chapitre I.B « Clinique des THA », sont présentes.

I.A.7.b Distribution sur le continent africain et les facteurs de risque de transmission de la maladie

I.A.7.b.i Afrique de l'Est/Afrique de l'Ouest

La distribution de la maladie du sommeil est fonction des zones où l'on trouve le vecteur et le réservoir au contact de l'Homme :

- *T. b. gambiense*, transmis par *Glossina palpalis*, sévit dans 24 pays d'Afrique de l'ouest et d'Afrique centrale, avec moins de 20 000 cas par an, 7 106 en 2012, soit 97% des cas rapportés de THA(51) (Figure 11 et Figure 12). Cette sous-espèce de *Trypanosoma* serait strictement humaine, même si des auteurs évoquent le porc comme hôte vertébré possible. Il semblerait néanmoins que la sous-espèce impliquée, *T. b. gambiense* groupe I, serait génétiquement différente de celle retrouvé chez le cochon. Cependant, il a été observé une diminution des infections à *T. b. gambiense* chez les animaux domestiques après une campagne de dépistage et traitement de la population humaine environnante(36)(52) ;
- *T. b. rhodesiense* est transmis principalement par *Glossina morsitans*. On le retrouve dans 13 pays d'Afrique de l'est et d'Afrique australe (Figure 13). L'incidence de cette forme de THA est faible mais stable avec 112 cas déclarés à l'OMS en 2012. Cette sous-espèce peut être transmise à différents vertébrés dont les antilopes, d'autres animaux sauvages et des bovidés. Il s'agit donc d'une anthropozoonose. La maîtrise du réservoir humain n'est pas suffisante pour contrôler la maladie ;

Avec la modification des habitudes et modes de vie, on a une modification des réservoirs animaux de la maladie. En Ouganda, par exemple, les effectifs d'animaux sauvages diminuent et le réservoir des parasites transmissibles à l'Homme se déplace vers les animaux domestiques. Ceci s'observe dans d'autres pays africains. Les troupeaux de bétail sont ainsi classiquement porteurs de *T. b. rhodesiense*, bien qu'aucun cas humain ne soit déclaré dans ces régions tel le Kenya de l'ouest.

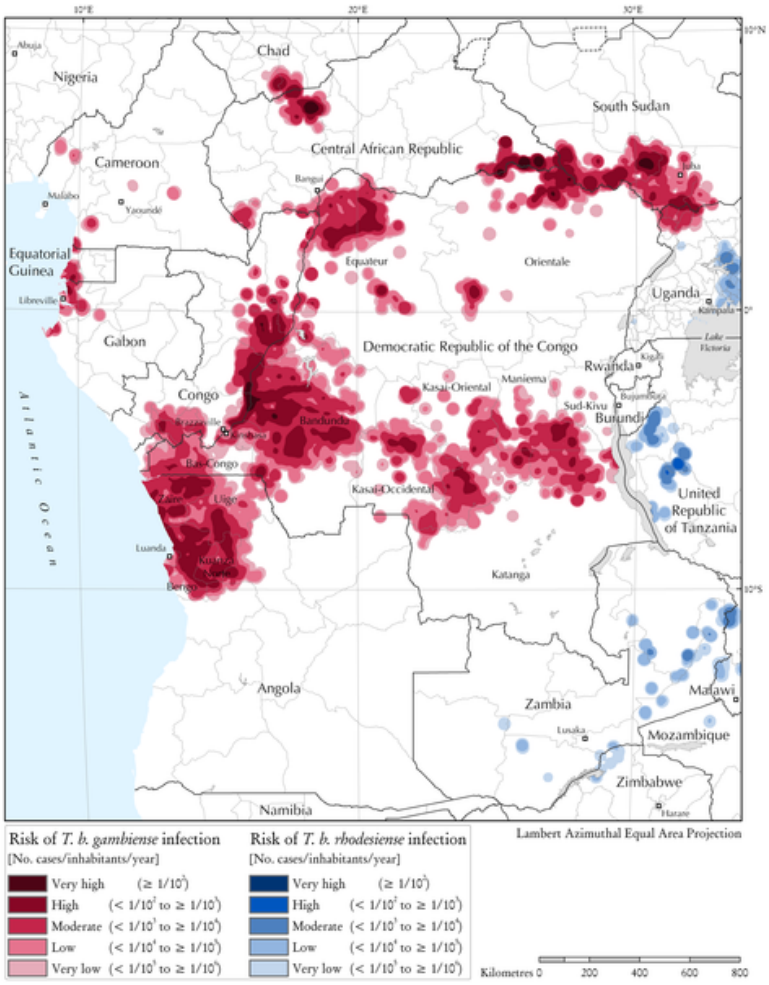


Figure 11 : risque infectieux à *T. b. gambiense* en Afrique centrale (2000-2009) (d'après (53))

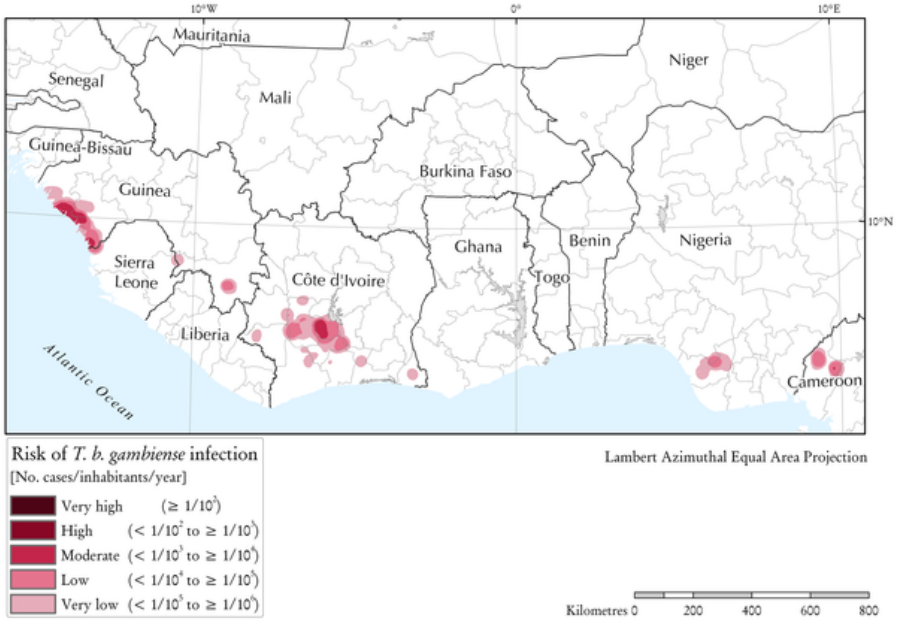


Figure 12 : risque infectieux à *T. b. gambiense* en Afrique de l'ouest (2000-2009) (d'après (53))

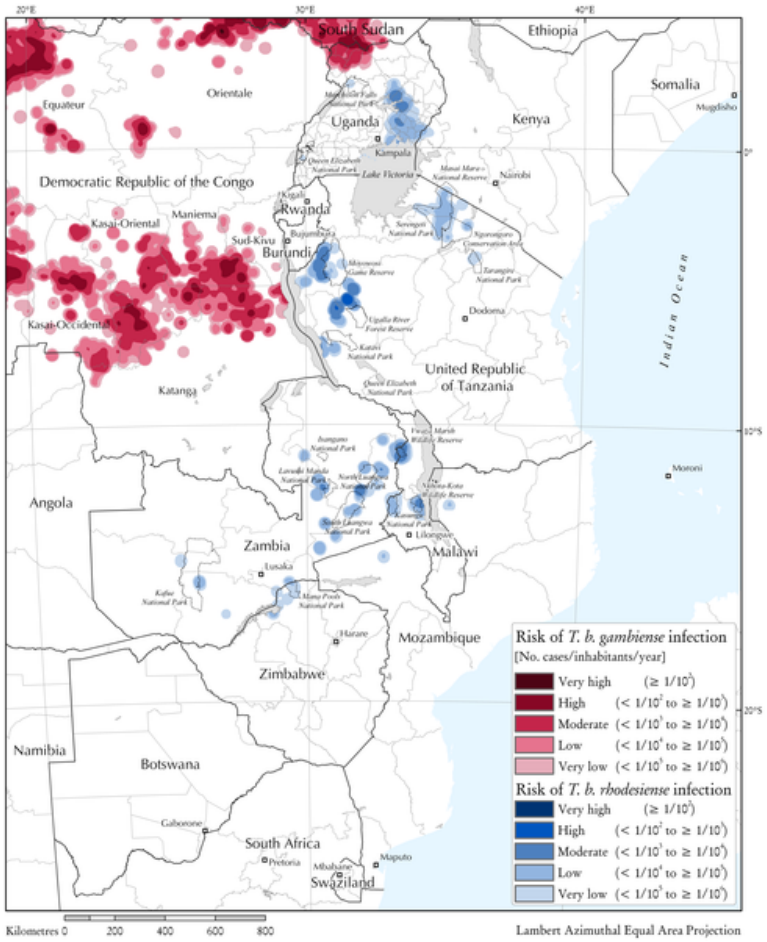


Figure 13 : risque infectieux à *T. b. rhodesiense* en Afrique de l'est et du sud (2000-2009) (d'après (53))

L'absence de programme de lutte est un facteur de risque important de transmission de la maladie. L'instabilité politique et la dangerosité d'accès de certains territoires africains touchés par les THA, comme la RDC ou l'Angola, par les équipes mobiles sont autant de facteurs limitant la surveillance et le dépistage des populations à risque.

Le défaut d'éducation de la population à risque vis à vis de la maladie, concernant son mode de contamination par exemple, entretient les croyances tribales et empêchent la compréhension des systèmes de lutte et de leur utilité par les tribus africaines(54).

À l'intérieur même des régions d'Afrique que l'on vient de voir, on peut délimiter des zones d'épidémie de la maladie.

I.A.7.b.ii Zones d'épidémie dans les régions africaines

À l'intérieur d'une même région, les cas rapportés définissent de petits foyers d'épidémie plus ou moins étendus : la mouche est active sur une zone bien délimitée, que ce soit un village voire une région entière.

Globalement, les THA se retrouvent dans les zones rurales pauvres et reculées où l'on vit de l'agriculture,

de l'élevage, de la chasse et de la pêche(3).

La glossine se trouve principalement en zone forestière humide, où elle peut se nourrir sur de nombreux hôtes. Le contact avec l'Homme est sporadique au cours d'activités comme la chasse, ou lorsque les hôtes potentiels vivent dans des clairières en lisière de forêt ou dans les zones frontalières de déforestation(55).

Dans les zones plus arides, la mouche se trouve près de la végétation et des points d'eau. Ainsi la pêche ou les activités domestiques, comme aller chercher de l'eau ou encore l'agriculture, sont des activités à risque(56)(57)(58).

La présence de mangrove et la culture du riz ou les activités près de cette végétation ont aussi été impliquées comme facteur de risque de maladie du sommeil(59).

Des zones de transmission en dehors des zones rurales existent. On retrouve la maladie dans les faubourgs des villes, en périphérie de celles-ci, comme à Kinshasa par exemple(56).La maladie est aussi observée à l'intérieur-même des villes lorsqu'un reliquat de végétation existe(60).

L'absence d'hôtes vertébrés autres que l'Homme est un facteur à prendre en compte dans le risque de transmission des THA(61).

La prévalence de la maladie est plus importante chez les adultes. Ce constat est lié à un risque d'exposition plus important des adultes aux piqûres de mouches tsé-tsé que des enfants(3).

En ce qui concerne le voyageur, le risque de contact avec le trypanosome est faible. En effet, les touristes vont rarement dans les zones rurales à fort risque de transmission de la maladie.

I.A.7.c Cas d'importation

Entre 1980 et 2004, la France, *via* 46 laboratoires sollicités par le réseau ANOFEL Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie, a dénombré 26 cas de THA dont 24 dus à la sous-espèce *T. b. gambiense* et deux à *T. b. rhodesiense*. Parmi ces 26 cas de THA, 15 des patients concernés étaient originaires d'Afrique et 11 étaient d'origine française (Tableau II)(62).

Le délai diagnostique, chez les patients d'origine africaine, était de cinq mois à sept ans sans que l'on sache si ce laps de temps correspondait à la durée d'incubation de la maladie ou à une errance diagnostique. Parmi les causes de retard diagnostique, on note la présence de symptômes peu spécifiques de la maladie : quatre fois un syndrome psychiatrique et deux fois un tableau de syndrome mononucléosique. Le mode de transmission non usuel de la maladie est aussi une cause de retard diagnostique avec le signalement d'une contamination par transfusion chez un enfant africain.

Tableau II : liste des 26 cas de trypanosomoses humaines africaines observés en France entre 1980 et 2004 (d'après (62))

N° cas	Année	Tr.[1]	Origine du patient	Pays de contamination	Age	Sexe	Délai[2] diagnostic	Stade clinique[3]	Trait.[5]	Ev.[6]	Publication (1er auteur, Revue, année, tome, page)
1	1980	g	Burkina Faso	Guinée	23	m	3 ans	2	su/ml	de	non publié
2	1981	g	France	Cameroun/Congo	29	m	nc	1	pe	gu	non publié
3	1981	g	France	Cameroun/Congo	29	m	3 mois	1	pe	gu	non publié
4	1981	g	Gabon	Gabon	32	m	nc	1	ef	gu	non publié
5	1981	g	Mali	Guinée	45	m	2 ans	2	ef/ml	gu	non publié
6	1982	g	Espagne	Guinée equator	19	m	nc	1	pe	gu	non publié
7	1982	g	Grèce	Cote d'Ivoire	28	m	5 ans	2[4]	ml	sq	non publié
8	1983	g	Cameroun	Cameroun	40	f	nc	nc	nc	nc	non publié
9	1984	g	Cote d'Ivoire	Cote d'Ivoire	31	m	7 ans	2	ml	gu	non publié
10	1984	g	Congo	Congo	31	f	nc	2[4]	ml	gu	non publié
11	1986	g	Centrafrique	Centrafrique	14	f	13 mois	2	ef	gu	Benhamou PH, Presse Med,1989; 18:1199-202
12	1988	g	Angola	Angola	4	m	2 ans	2	ef	gu	Blanchot I, Pédiatrie,1992; 47:179-83
13	1988	g	RDCongo	RDCongo	34	f	nc	2	ml/ef	gu	non publié
14	1990	g	France	Congo	28	f	1 an	2	ef	gu	Peceny J, Med Mal Inf, 1995, 25:542-4
15	1991	g	RDCongo	RDCongo	39	m	5 ans	2[4]	ef	sq	Bédat-Millet AL, Rev Neurol, 2000; 156 :505-9
16	1992	g	Congo	Congo	62	m	nc	nc	nc	nc	non publié
17	1992	g	Gabon	Gabon	50	m	nc	2	ml	de	non publié
18	1993	g	RDCongo	RDCongo	30	f	nc	2[4]	ef	sq	Peceny J, Med Mal Inf, 1995, 25:542-4.
19	1993	r	France	Rwanda	27	m	1 sem.	1	ml	gu	Montmayeur A, Bull Soc Path Exot, 1994, 87:368-71
20	1993	r	France	Rwanda	30	m	1 sem.	2	ml	gu	Imbert P, BEH, 1994; 18:79
21	1996	g	France	Guinée	53	m	5 mois	2	ef	gu	Raffenot D, Ann Biol Clin, 2000, 58:94-6
22	1997	g	France	Guinée	53	m	nc	1	pe	gu	Malvy D, Med Trop, 2001; 61:323-7
23	1998	g	France	Gabon	45	m	2 sem.	1	pe	gu	Iborra C, Clin Inf Dis, 1999, 28:679-80
24	1999	g	France	Gabon	50	m	nc	1	pe	gu	non publié
25	1999	g	Congo	Congo	34	f	nc	nc	nc	nc	non publié
26	2001	g	RDCongo	RDCongo	28	f	5 mois	2	ef	gu	Landron C, Eur J Int Med, 2003,14:390-1

1 Espèce en cause : g = THA à *T. gambiense*, r : THA à *T. rhodesiense*
2 nc = délai non connu
3 1 = forme lymphatico-sanguine, 2 = forme neurologique
4 Forme neurologique avec composante psychiatrique
5 Traitement, ef = eflornitine, ml = mélarsoprol, pe = pentamidine, su = suramine
6 Évolution, gu = guérison, sq= séquelles, de = décès, nc = évolution inconnue

Mondialement, on estime que le nombre de cas dus à *T. b. gambiense* diagnostiqués en dehors de l'Afrique se porte à 20 par an, selon l'OMS (Jannin), et 30 cas de maladie du sommeil pour *T. b. rhodesiense*.

En Europe, il y aurait eu 109 cas de THA d'importation entre 1904 et 1963 et 94 cas entre 2000 et 2010 dont 72% avec *T. b. rhodesiense*(63)(64). La majorité des cas chez les migrants sont dus à *T. b. gambiense* alors que les touristes caucasiens, lors de leurs safaris dans les réserves de Tanzani du Nord et d'Ouganda, s'infectent préferentiellement avec la forme rhodésienne(65).

Parmi les cas de THA importés, les tableaux cliniques survenant chez des personnes caucasiennes sont plus aigus que chez les personnes d'origine ethnique africaine. La présence du chancre d'inoculation est plus fréquente. De même les trypanides sont visualisées chez la moitié des caucasiens mais sont plus difficiles à voir sur les peaux foncées.

I.B Clinique des THA

La présentation clinique des THA dépend, principalement, de la sous-espèce parasitaire en cause :

- *T. b. gambiense* est responsable d'un tableau clinique chronique estimé à trois ans d'évolution en moyenne et aboutissant, généralement, à la mort en l'absence de traitement(66)(67).

- *T. b. rhodesiense* a une présentation clinique aiguë, avec une atteinte cardiaque à type de myocardite, et une atteinte rénale avec une protéinurie, entrainant l'apparition de la phase

neurologique en trois semaines à deux mois d'évolution avec un taux de mortalité estimé à 6% sous traitement(68).

Les signes cliniques et symptômes des deux différentes présentations cliniques restent les mêmes mais sont présents plus ou moins fréquemment, plus ou moins tôt dans la maladie ou de manière plus ou moins marquée en fonction de la sous-espèce en cause comme nous allons le développer ci-dessous.

Tableau III : signes et symptômes des THA chez les natifs en fonction de la phase et de la sous-espèce parasitaire incriminée (d'après (69))

	T. b. gambiense		*T. b. rhodesiense*	
	Phase I	**Phase II**	**Phase I**	**Phase II**
Durée moyenne de la phase	18 mois	18 mois	1-3 semaines	Quelques semaines
Chancre	<5%	0%	5-26%	0%
Lymphadénopathies	79-95%	56-85%	21%	51-80%
Fièvre	10-20%	10-40%	28-90%	18-37% à 72%
Céphalée	51-80%	38-79%	96%	51-80%
Trypanides	Rarement observées chez les natifs			
Prurit	29-33%	17-57%	0%	6-53%
Hépatomégalie	1-20%	7-17%	0-40%	6-30%
Splénomégalie	9-27%	5-19%	0-36%	16-58%
Somnolence	18%	29-41%	25-33%	51-66%
Tremblements	5%	19-21%	17-61%	16-67%
Troubles neurologiques	<20%	20-40%	<20%	50-58%
Troubles psychiatriques	<10%	25%	17%	15-22%

I.B.1 Chancre d'inoculation

Au niveau du site de la piqûre douloureuse du diptère, un nodule chaud se forme, consécutif à la multiplication parasitaire *in situ*. C'est le chancre d'inoculation ou trypanome.

Il passe souvent inaperçu dans les THA à *T. b. gambiense.*

En ce qui concerne les infections à *T. b .rhodesiense*, le chancre apparaît rapidement, en quelques jours, et subsiste deux à trois semaines. Il est retrouvé dans cinq à 26% des infections avec ce dernier et s'ulcère (Tableau III)(3). Une desquamation périphérique peut se produire avec hyperpigmentation secondaire de cette zone cutanée.

I.B.2 Période d'incubation

Le délai d'apparition des premiers signes cliniques est difficile à évaluer. On estime que ce délai se situe entre quelques semaines et plusieurs années.

I.B.3 Développement en deux stades cliniques

Les THA se déroulent en deux phases :

- La phase I ou lymphatico-sanguine dite de généralisation : correspondant au développement et à la dispersion du parasite dans le système lymphatique et sanguin de l'hôte vertébré infecté. Pendant ce stade, la clinique est souvent indolente et les patients ne se plaignent pas ;
- la phase II ou hémato-encéphalique dite de polarisation cérébrale : correspondant au passage de la BHE par le parasite et à son développement *in situ.* Des avancées dans la physiopathologie de la maladie remettent en question le passage du parasite uniquement pendant la phase II. Il a été montré que les parasites, via la production d'une protéase, passent la BHE de l'hôte infecté dès 20 jours après le début de l'infection mais restent confinés au niveau des leptoméninges. La présence des trypanosomes évoluerait en parallèle de leur nombre dans le sang avec les vagues de parasitémie. Leur nombre serait régulé par la sécrétion de prostaglandine par le parasite lui même et par l'hôte infecté. Plus la densité de trypanosome augmente plus la quantité de prostaglandine augmente. Lorsque la concentration de prostaglandine atteint un seuil suffisant, elle interfère avec la régulation du sommeil de l'hôte sommeilleux entrainant les symptômes typiques de la phase II. Ce ne serait que lorsqu'il y a déséquilibre que les trypanosomes atteindraient le tissu cérébral entrainant une méningo-encéphalite puis la mort(70).
  Mais plusieurs mécanismes seraient impliqués dans le développement de symptômes neurologiques et le passage par le parasite de la BHE n'en serait qu'une composante. La réaction inflammatoire périvasculaire médiée par les astrocytes et faisant intervenir le TNF-α et l'Interleukine-1, de même que les Ac anti-myélines seraient des facteurs importants dans le développement de ces symptômes(32).

Les signes cliniques et symptômes développés par le malade au cours des THA ne sont pas pathognomoniques de la maladie. Ils sont peu spécifiques, et ne sont pas toujours présents au cours de l'évolution de la maladie rendant le diagnostic de maladie du sommeil parfois difficile et, lorsque le diagnostic est posé, rendant le diagnostic de phase difficile à affirmer avec certitude en dehors d'arguments biologiques. La distinction en deux phases cliniques est d'autant plus sujette à controverse que les différents signes cliniques sont souvent présents en phase I et en phase II (Tableau III).

Seul le tableau neurologique et l'analyse du LCR permettent une catégorisation indiscutable en phase II neurologique, catégorisation utile au choix thérapeutique qui en découle.

Historiquement, les signes cliniques et symptômes sont répartis comme suit en fonction du stade de la maladie (Tableau IV):

- Phase lymphatico-sanguine : les adénopathies, la fièvre, le prurit, les trypanides, l'atteinte cardio-vasculaire, les œdèmes, le syndrome douloureux, les céphalées, l'altération de l'état général ;
- Phase hémato-encéphalique : les troubles sensitifs, les troubles du sommeil, les troubles psychiques, la confusion mentale, le syndrome pyramidal, les mouvements anormaux, les troubles endocriniens.

Tableau IV : signes cliniques et symptômes principaux en fonction du stade de la maladie au cours des THA

Phase lymphatico-sanguine	*Phase hémato-encéphalique*
• **ADNP cervicales sus claviculaires** • **Fièvre intermittente** • **Céphalées** • **Trypanides** • **Prurit** • **Œdèmes** • **HSM modérée** • **Troubles cardio-vasculaires**	**Signes neurologiques au premier plan :** • **Hypersomnie** • **Sensitifs** • **Psychiques** • **Moteurs** **Cachexie** **Évolution fatale**

ADNP : adénopathies, HSM : hépato-splénomégalie,

I.B.3.a Phase lymphatico-sanguine

I.B.3.a.i Lymphadénopathies

La présence d'adénopathies correspond à une phase de prolifération lymphatico-sanguine locorégionale des trypanosomes(71).

Elles sont de petite taille, souples, mobiles et non douloureuses.

Lors de la phase I, les lymphadénopathies sont moins fréquemment retrouvées avec les infections à *T. b. rhodesiense* qu'avec celles à *T. b. gambiense* (21% vs 79-95%)(3).Cette tendance tend à s'équilibrer à la baisse lors de la phase II (Tableau III).

Chez les patients infectés avec *T. b. gambiense,* les adénopathies sont souvent retrouvées au niveau de la chaine cervicale latérale en arrière du muscle sterno-cléido-mastoïdien ; alors que ceux infectés avec *T. b. rhodesiense* développent préférentiellement des adénopathies submandibulaires, ces adénopathies peuvent se développer dans d'autres sites comme la région axillaire, inguinale et épitrochléenne.

I.B.3.a.ii Fièvre

Lors des vagues de parasitémie, la température du patient augmente. La fièvre est donc intermittente et suit ces vagues.

Les épisodes fébriles durent de un jour à une semaine entrecoupés d'intervalle de quelques jours à plusieurs mois selon l'OMS(3).

Ce signe est plus marqué au stade lymphatico-sanguin que lors de la polarisation cérébrale et est plus fréquent avec *T. b. rhodesiense* (Tableau III) (3).

I.B.3.a.iii Céphalées

Les céphalées sont fréquentes et ne font que croitre lors de l'évolution de la maladie. Ce symptôme est peu spécifique et ne permet pas d'orienter le diagnostic (Tableau III).

I.B.3.a.iv Trypanides

Les trypanides sont des lésions papuloérythémateuses de cinq à dix centimètres situées au niveau du tronc et de la racine des membres(71). Ces signes cutanés peuvent être hémorragiques, nécrotiques, oedémateux ou prurigineux et sont spontanément résolutifs sans cicatrice. Ces trypanides se retrouvent plus souvent chez les trypanosomés à *T. b. rhodesiense*(71).

I.B.3.a.v Prurit

Le prurit est fréquent mais peut être associé à d'autres pathologies tropicales, comme les filarioses qui sévissent de manière endémique dans des zones où l'on retrouve le trypanosome.

Tout comme les céphalées, ce symptôme augmente en sévérité avec l'évolution de la maladie. Des lésions de grattage caractéristiques sont fréquentes en phase II de la maladie. Le prurit est présent en moyenne chez un tiers des patients à la phase I et la moitié des patients en phase II (Tableau III) (3).

I.B.3.a.vi Oedèmes

Les œdèmes, mobiles et fugaces, sont plus fréquents au niveau facial et sous-orbital, qu'au niveau des membres. Ils ont été retrouvés dans 13% des cas de maladie du sommeil, lors d'une étude menée en RDC, donc liée à *T. b. gambiense*(72). Ce symptôme serait plus fréquent dans les THA à *T. b. rhodesiense*(3).

I.B.3.a.vii Hépato-splénomégalie

L'hépato-splénomégalie (HSM) est souvent observée. Elle s'amende souvent à la phase II (Tableau III).

I.B.3.a.viii Syndrome douloureux

Tout comme le signe clinique précédent, les douleurs musculaires et squelettiques dites rhumatismales ne sont pas spécifiques mais sont souvent présentes lors des poussées fébriles et ne permettent pas d'aider au diagnostic.

I.B.3.a.ix Troubles cardiovasculaires

Les troubles du rythme cardiaque, de la conduction et de la repolarisation, sont les principaux symptômes cardiaques décrits. Ils sont repérables à l'électrocardiogramme (ECG) par un allongement de l'espace QT, des troubles de la repolarisation et un microvoltage. Ces signes à l'ECG peuvent se traduire cliniquement par des tachycardies, un assourdissement des bruits du cœur, des douleurs thoraciques, ou des arythmies. Des hypotensions artérielles ont aussi été retrouvées(71).

Ces troubles du rythme sont présents tôt et sont de plus en plus fréquents avec l'avancée dans la maladie. On les retrouve dans la moitié des patients de phase I infectés avec *T. b. gambiense* pour aboutir à 70% lors de la phase II(73).

Les troubles cardiaques avec les THA à *T. b. rhodesiense* sont plus graves. Il a été décrit des aryhtmies mais aussi des pancardites(71).

Les atteintes cardiaques n'ont pas été, à notre connaissance, très étudiées dans les THA. Mais il semblerait, lors d'autopsies, que l'infiltration du cœur par les trypanosomes entrainerait des inflammations locales, des fibroses cardiaques et même des insuffisances cardiaques et que ces anomalies seraient fréquemment présentes(74).

Une étude prospective en 2007 a comparé les troubles de conduction visibles à l'ECG et les résultats d'examens biologiques comme le NT-proBNP, chez des patients infectés et des patients sains. Il semblerait que les dysfonctions du ventricule gauche, dont la présence a été extrapolée d'après les valeurs du NT-proBNP, serait plus fréquentes chez les patients trypanosomés que les autres. Les valeurs de ce paramètre sont revenues à la normal après traitement. Aucun traitement contre l'insuffisance cardiaque n'a été nécessaire pendant l'étude et les anomalies de repolarisation étaient plus fréquentes dans le bras des patients malades. Cette étude n'infirme pas la survenue d'insuffisance cardiaque ou de dysfonction ventriculaire gauche lors des THA mais nécessite de plus amples recherches pour évaluer l'impact de la maladie sur les fonctions cardiaque et ceci d'autant plus que des traitements utilisés dans ce contexte sont cardiotoxiques(75).

I.B.3.b Phase hémato-encéphalique

I.B.3.b.i Troubles du sommeil

La maladie du sommeil tient son nom du trouble du sommeil qui est le symptôme phare de la phase tardive.

Il est décrit fréquemment, et à tort, comme une « inversion du sommeil ». Il se caractérise par une mauvaise répartition des phases de sommeil du patient avec des épisodes d'endormissement fréquents et courts présents sur tout le nycthémère. Le temps total de sommeil, lorsque mis bout à bout chez le malade, reste dans les limites de la normale(71).

Au fur et à mesure que la maladie évolue, les crises d'hypersomnie sont de plus en plus rapprochées et peuvent survenir au milieu d'une phrase. Ces crises sont « invincibles » : lors de ces crises, le patient n'est plus réveillable ; et « impérieuses » : les crises peuvent survenir lors du repas et le patient tombe en avant.

L'étude polysomnographique (PSG) des patients, initiée par Buguet, est basée sur l'enregistrement de trois paramètres sur 24 heures : ceux de l'éléctro-encéphalogramme, ceux de l'électro-oculogramme et ceux de l'électro-myogramme. Cette étude permet de distinguer les trois phases de la vigilance chez les sujets: l'éveil calme et actif, le sommeil orthodoxe lent et profond et enfin le sommeil paradoxal ou *sleep rapid onset eye movement period* (SOREMP) chez les anglosaxons. Les patients sommeilleux présentent deux anomalies caractéristiques de la maladie en phase tardive(76) :

- L'altération de la répartition circadienne du sommeil avec une fragmentation du sommeil. Les épisodes de sommeil deviennent de plus en plus fréquents et courts lorsque la maladie évolue ;
- La structure du sommeil se modifie avec des épisodes de multiples « sommeil paradoxal » ou SOREMP qui initient les épisodes de sommeil. Ces SOREMP chez les patients normaux surviennent après 60 à 90 minutes de latence soit après les différents stades de sommeil orthodoxe. Ces anomalies ne sont pas spécifiques de la maladie du sommeil puisqu'elles sont aussi observables dans les narcolepsies et surviennent à un stade évolué de la maladie : au stade de méningo-encéphalite.

Malheureusement, ces anomalies lors de l'étude PSG des patients sommeilleux ont aussi été mises en évidence chez des patients au stade I (clinique de Viana en 2000 et à samba cajù et camabatela en 2003)(77)(78). Une hypothèse avancée serait que ces patients n'étaient pas au stade I comme initialement diagnostiqué mais bien effectivement au stade II avec un passage de la BHE par le parasite. Ceci remet en question le fait que les anomalies ne soient objectivées que lors du stade méningo-

encéphalitique mais permettrait d'affirmer le passage du trypanosome dans le SNC. La présence des deux critères développés ci-dessus permettraient donc de classer le patient en phase II de la maladie. Ces anomalies seraient réversibles après traitement de la maladie et l'étude PSG serait aussi utile lors du suivi post-thérapeutique des patients. Les ponctions lombaires (PL) pourraient n'être faites que si les anomalies de l'étude PSG sont toujours présentes et seulement dans ce cas(76)(79)(71)(80).

I.B.3.b.ii Tableau neurologique

Certains de ces symptômes neurologiques sont peu spécifiques et sont retrouvés aussi bien lors de la phase I que lors de la phase II de la maladie.

Les troubles mentaux, liés aux changements de comportement, à type d'agressivité, d'indifférence, d'hyperactivité, de dépression voire d'hallucinations, sont possibles à ce stade de la maladie et peuvent conduire à des errances diagnostiques. Ces troubles psychiatriques sont souvent remarqués par l'entourage et des délires sont décrits, notamment des délires paranoïaques(2).

Après le passage par le trypanosome de la BHE, les symptômes développés seront guidés par les zones préférentielles atteintes par *Trypanosoma*. Les troubles du sommeil sont liés à une atteinte des noyaux supra optiques, les signes extrapyramidaux à l'atteinte du striatum et les troubles de la sensibilité aux lésions du thalamus et des ganglions sensitifs des racines rachidiennes postérieures. Des hyperesthésies sont décrites tôt dans la maladie avec notamment le signe de la clé de Kérandel (une hyperesthésie profonde douloureuse empêche le patient de serrer une clé pour la tourner dans une serrure). L'ataxie est le seul symptôme témoignant d'une atteinte cérébelleuse que l'on retrouve chez les trypanosomés. Les réflexes archaïques réapparaissent traduisant une atteinte du tronc cérébral(71).

Des mouvements anormaux sont : à type de faiblesse moteur, tremblements, bradykinésies, troubles de la marche, mouvements choréiques ou athétosiques des membres supérieurs, oscillations du tronc, mouvements du succion des lèvres. Ces symptômes apparaissent tardivement dans la maladie et sont le signe d'une atteinte du diencéphale et du mésencéphale.

Lorsque la maladie est très évoluée, apparaissent des démences, des épilepsies puis l'incontinence, le coma, la malnutrition, des complications de l'immobilité et du décubitus, les surinfections bactériennes et finalement la mort(71).

Sous traitement et lorsque la pathologie n'est pas trop évoluée, les troubles neurologiques régressent grâce à la diminution des lésions inflammatoires qui sont prédominantes à ce stade. Lors des stades tardifs de la phase II, des méningo-encéphalites démyélinisantes sont retrouvées.

Plus la maladie est prise tardivement, plus les lésions sont importantes et des séquelles sont à prévoir.

I.B.3.b.iii Désordres endocriniens

Des hypothyroïdies, des insuffisances surrénales et des hypogonadismes sont possibles(81).

Les troubles sexuels peuvent être d'origine centrale, au niveau hypothalamo-pituitaire par action des enzymes et protéines du trypanosome, ce qui entraine la baisse de la testostérone chez l'homme et de l'oestradiol chez la femme. Les manifestations cliniques en sont l'aménorrhée chez la femme, la baisse de la libido et l'impotence sexuelle chez l'homme(82)(83).

Dans les cas sévères, le rythme circadien de sécrétion des hormones, prolactine, *Growth Hormone* (GH) et cortisol, disparaît(84).

I.B.4 Autres tableaux cliniques

I.B.4.a Portage sain

A coté de cette dualité clinique, deux phases et deux parasites, il a été rapporté des cas de portage sain chez des trypanosomés de longue date sans développement de signes cliniques(85). Cette trypanotolérance a déjà été montrée dans des trypanosomoses animales et ce mécanisme est en cours d'étude chez l'Homme. Le concentrations des cytokines jouerait un rôle important(86).

I.B.4.b Populations à part

Deux types de populations sont à mettre à part :

I.B.4.b.i Les enfants

La fièvre et l'asthénie sont des signes cliniques fréquemment rencontrés chez les enfants. De même que l'HSM. Les ADNP sont plus rares(2). Les enfants développent, à une fréquence plus élevée que les adultes, des signes neurologiques tels que des mouvements anormaux, des épisodes d'hypotonie, des troubles du sommeil et de la conscience(87). De plus, il a été remarqué que les signes cliniques des deux stades sont souvent présents simultanément avec une première phase rapide(88). Les séquelles sensitivomotrices et intellectuelles sont plus fréquentes(71).

I.B.4.b.ii Les voyageurs

Les voyageurs ont des tableaux cliniques aigus et fébriles avec un chancre fréquemment retrouvé(89). Peu de ces patients développent la phase II de la maladie ; les troubles du sommeil et les troubles neurologiques ne sont pas usuels. En effet, même sI les voyageurs sont fréquemment parasités par *T. b. rhodesiense*, 82% d'entre eux sont diagnostiqués lors de la phase I de la maladie et seulement 18% lors

de la phase II avec un délai diagnostic estimé entre une à trois semaines.

I.C Outils diagnostiques des THA

Ainsi que nous l'avons vu dans le chapitre précédent, les signes cliniques de la maladie du sommeil ne sont pas suffisamment spécifiques pour pouvoir poser un diagnostic de certitude de l'affection. Celui-ci repose donc sur les résultats des analyses biologiques.

Par contre, il est admis que les THA sont fatales lorsqu'elles ne sont pas traitées. Au vu des connaissances actuelles, ce postulat est indiscutable lorsque les patients sont en phase II. Les molécules disponibles actuellement ayant des effets secondaires importants, des tests diagnostiques sensibles, qui ne méconnaissent pas des cas avérés, et spécifiques, qui évitent des traitements abusifs, sont nécessaires(90).

En zone d'endémie, ce qui représente les circonstances de diagnostic les plus fréquentes, la recherche des THA se fait, classiquement, en trois étapes :

- le dépistage ;
- la confirmation parasitologique ;
- le diagnostic de phase.

Le dépistage de masse s'appuie sur des tests sérologiques. Il permet de gagner du temps et de ne réserver les tests parasitologiques complexes qu'aux cas douteux. Comme aucun test diagnostique ne possède une sensibilité ni une spécificité suffisante pour être utilisé seul, des schémas d'investigation sont proposés(90). Les arbres diagnostiques sont différents selon le pays concerné et la prévalence de la maladie sur le territoire, l'avancée dans la maladie, et enfin la sous-espèce impliquée.

En dehors des zones d'endémie, un voyage de même que des signes cliniques comme le trypanome ou les atteintes neurologiques permettent parfois d'éveiller les soupçons, des résultats biologiques, non spécifiques du diagnostic de THA, peuvent amener à évoquer le diagnostic de THA. Ces signes d'orientation devront ensuite être confirmés par des examens indirects plus spécifiques ou mieux, par la mise en évidence du parasite.

I.C.1 Signes biologiques d'orientation diagnostique

I.C.1.a Numération formule sanguine

On retrouve classiquement une anémie expliquée par la production d'auto-Ac lors de la maladie. Ces auto-Ac entrainent une érythrophagocytose(20)(2).

Le syndrome inflammatoire s'objective par une hyperleucocytose avec une plasmocytose. Parmi les plasmocytes décrits, on retrouve des cellules de Mott dans le sang périphérique voire dans le LCR au cours des stades avancés de THA(20). Même si les cellules de Mott ont été décrites pour la première fois chez un patient sommeilleux et sont fortement évocatrices du diagnostic, elles sont aussi retrouvées dans d'autres pathologies comme la maladie de Waldenstöm et ne sont pas spécifiques du diagnostic(91). Nous reparlerons de ces cellules au chapitre I.C.4.b.i « Numération de la cytorachie ».

I.C.1.b Électrophorèse des protéines sériques

On observe classiquement une hyperprotidémie avec hypoalbuminémie et hypergammaglobulinémie. L'hypergammaglobulinémie est due à la production importante d'immunoglobulines (Ig) sériques dont les IgM, jusqu'à quatre à 20 fois la normale(20).

I.C.1.c Syndrome inflammatoire biologique

On retrouve une augmentation de la vitesse de sédimentation (VS), de la *C reactive protein* (CRP) et des cytokines pro-inflammatoires.

I.C.2 Examens de dépistage et autres diagnostic indirect

Le dépistage de masse aussi appelé « actif », qui s'effectue par le déplacement d'équipes mobiles dans les foyers reculés de la maladie, est un élément important pour arriver à contrôler voire éradiquer la maladie du sommeil. Ce dépistage nécessite des tests sensibles, rapides, peu couteux et faciles à utiliser. Actuellement, il se base sur un test : le *Card Agglutination Test for Trypanosomiasis* (CATT). Un autre test est en cours d'étude : le Test de Diagnostique Rapide (TDR). Ces deux tests permettent de détecter les Ac produits par l'hôte sommeilleux.

D'autres tests biologiques sont disponibles pour étayer le diagnostic que ce soit des tests indirects de détection d'Ac : l'ImmunoFluorescence indirecte (IFI) ou l'*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays* (ELISA) ou des tests de biologie moléculaire. Ces derniers tests, couteux, sont plutôt utilisés hors des zones d'endémie. S'ils ne sont pas disponibles pour les équipes mobiles ni dans la plupart des dispensaires de premier secours, ils peuvent être mis en place dans des centres de référence dans les capitales des pays des zones d'endémie.

Enfin, un dernier test existe, disponible dans certains laboratoires de référence sur les THA : le test d'immuno-trypanolyse.

Nous allons détailler tous ces éléments ci-dessous.

I.C.2.a Détection des anticorps

L'hôte infecté par le trypanosome produit en réaction aux antigènes (Ag) du parasite un grand nombre d'Ac. Ces Ac sont majoritairement dirigés contre des glycoprotéines dont nous avons déjà parlé dans la section I.A.2.c « Morphologie et localisation chez son hôte » : les *Variant Surface Glycoproteins* (VSGs). Les parties très antigéniques de ces VSGs déterminent le type antigénique variant (VAT). À chaque vague de parasitémie correspond un VAT. Chez le parasite vivant, les épitopes spécifiques du VAT sont exposés de manière accessible aux Ac du patient sommeilleux. Chez *T. b. gambiense*, on a mis en évidence l'existence de trois VAT : LiTat (*Lille Trypanozoon antigen types*) 1.3, 1.5 et LiTat 1.6. Chez *T. b. rhodesiense,* ETat (*Edinburgh Trypanozoon antigen repertoire*) 1.2 a été décrit(92). Un seul VAT est exprimé par le parasite à la fois :

- En ce qui concerne la THA à *T. b. gambiense,* certains VAT, dont LiTat 1.3 et 1.5, sont présents chez presque tous les malades. Des parasites, présents dans différents foyers, de la maladie expriment le même VAT aussi appelé VAT sérologiquement identique(28). LiTat 1.3 est présent chez tous les parasites de cette sous espèce de Côte d'Ivoire alors que LiTat 1.5 se retrouve au Nigeria(92). On a remarqué que parmi les Ac produits par l'hôte trypanosomé, il existe toujours des Ac qui réagissent avec au moins un des deux types d'Ag cités. En fonction du type d'Ac détecté, et donc en fonction de l'Ag utilisé, le test sera plus ou moins sensible ou spécifique.
- La très grande variabilité des VSGs chez *T. b. rhodesiense* ne permet pas la mise en évidence d'un VAT prédominant pour toutes les différentes souches de parasite de cette sous-espèce. Ce phénomène empêche donc la mise au point d'un test qui utiliserait un ou deux types d'Ag préférentiels pour rechercher les Ac chez le patient sommeilleux. C'est pourquoi aucun test de dépistage n'est disponible pour cette sous-espèce. Les tests utilisant des extraits de trypanosomes par lysat brut des parasites ou des trypanosomes entiers sont les seuls disponibles. Nous reverrons au chapitre I.C.2.a.vii « Nouveaux Antigènes » des avancées possibles dans la détermination d'Ag utilisables dans les tests sérologiques pour la détection des infections à *T. b. rhodesiense*.

Les tests de détection des Ac ont deux inconvénients majeurs :

- Des faux négatifs sont possibles si le dépistage est effectué dans la fenêtre sérologique des Ac, avant que les Ac ne soient détectables par les tests utilisés, soit dans les trois à quatre premières semaines de l'infection.
- Des réactions croisées sont possibles avec des Ac d'autres pathologies en fonction des tests utilisés, entrainant alors des faux positifs.

I.C.2.a.i Test d'immuno-trypanolyse

Le test d'immuno-trypanolyse est le test de référence ou « gold-standard ».

Sa mise en place nécessite l'utilisation de clones de trypanosomes vivants et nécessite donc une animalerie pour entretenir les souches parasitaires sur des animaux (souris principalement). Ce test n'est effectué que dans les laboratoires de référence.

Il s'agit d'un test de lyse médié par le complément (fourni par du sérum de cochon d'Inde). L'examen est considéré comme positif si plus de 50% des trypanosomes sont lysés. Ce phénomène n'est possible que si le VAT du clone de trypanosome utilisé pour le test est reconnu par tous les patients infectés ou presque, ce qui est le cas des VAT prédominants chez le trypanosome gambien comme nous l'avons évoqué au début de ce chapitre I.C.2. Ce test nécessite d'acheminer l'échantillon de sérum aux laboratoires de référence et de le conserver congelé lors du processus. L'étude de sa faisabilité sur des prélèvements faits sur papiers buvards, comme décrit au chapitre I.C.2.a.iii.4), a été concluante et permettrait d'alléger le processus de conservation de l'échantillon(93).

Ces VATs, très antigéniques, sont présents sur la partie exposée des VSGs à la surface du parasite. Chez les parasites vivants, seuls ces VATs sont accessibles aux Ac de l'hôte infecté, les épitopes non spécifiques ne sont pas exposés. Comme nous l'avons déjà évoqué, la diminution de la prévalence de la maladie dans la population africaine nécessite des examens de dépistage avec une très bonne spécificité. La nécessité de reconnaître les cas de THA CATT positifs mais négatifs lors de la confirmation parasitologique devient de plus en plus importante. Le développement de la biologie moléculaire semble une réponse possible bien que l'interprétation des résultats soit sujette à caution comme nous le reverrons dans la discussion. Cependant, la très grande spécificité du test de lyse des trypanosomes est utile afin de déterminer si le patient a déjà été en contact avec le parasite. Ce test sert aussi de contrôle de qualité pour les tests sérologiques mis en place sur le terrain(92)(3).

I.C.2.a.ii ImmunoFluorescence indirecte (IFI)

Dès les années 1960, plusieurs publications ont montré l'efficacité de l'immunofluorescence indirecte (Sadun, 1963 ; Courtois et Bideau, 1966 ; Bailey, 1967 ; Wéry, 1970 ; Frezil, 1974)(94). L'immunofluorescence indirecte a déjà été utilisée dans le dépistage et le contrôle de la maladie du sommeil en Guinée équatoriale entre 1985 et 1999(95). Au Gabon et en RDC l'IFI a également montré son intérêt(96)(97).

Le test peut s'effectuer sur du sérum, du plasma, des échantillons fixés sur papier buvard par une technique que l'on reverra au chapitre I.C.2.a.iii.4) « CATT-FP (CATT-Filter Paper) » et du LCR.

Ce test est applicable pour la recherche du trypanosome gambien et rhodésien grâce à l'utilisation

possible de trypanosomes entiers comme source d'Ag. Cette technique nécessite la culture de rongeurs trypanosomés desquels les parasites sont ensuite extraits.

La technique d'IFI peut maintenant s'effectuer à partir de clones de trypanosomes dont les VAT prédominants sont connus de type LiTat 1.3 ou LiTat 1.5 par exemple pour *T. b. gambiense.* Les trypanosomes sont conservés par une technique standardisée décrite par Magnus en 1978. Les Ag sont stabilisés et conservés lyophilisés pour une reconstitution ultérieure(98)(94).

En fonction des Ag utilisés, la sensibilité et la spécificité du test seront différentes. Pour le trypanosome gambien, la sensibilité de l'IFI effectuée sur du sérum et du LCR est comprise entre 75% et 95% avec une spécificité allant au delà de 90%(97)(3). Pour le parasite rhodésien, la sensibilité du test sur le sérum s'échelonne de 71% à 92%(3).

Ce type de test sérologique a été l'un des premiers mis au point mais les difficultés d'utilisation sur le terrain n'ont pas permis de le généraliser. La réalisation du test nécessite, en plus d'un microscope à fluorescence, de l'eau en grande quantité pour les lavages avec la solution *Phosphat Buffered Saline* et de l'électricité. La mise au point d'un microscope à fluorescence portable pourrait permettre à l'IFI d'être praticable dans des dispensaires plus reculés(99).

I.C.2.a.iii Card Agglutination Test for Trypanosomiasis (CATT)

Le CATT est un test sensible, rapide, peu couteux et simple à utiliser. Ce qui en fait un outil de choix pour le dépistage de masse. Il est fabriqué uniquement par le « *Prince Leopold Institute of Tropical Medecine* » (Anvers).

Le CATT n'est disponible que pour *T. b. gambiense.* Les Ag utilisés pour la détection des Ac sont des Ag LiTat 1.3 entiers, colorés et lyophilisés isolés de rats infectés.

Il existe deux variations du test : le CATT sur sang total (*Whole Blood*) ou CATT-WB et le CATT sur plasma ou CATT-P (Figure 14). Des tests permettant une utilisation différée sont possibles.

Figure 14 : le test CATT et ses accessoires (d'après(100))

I.C.2.a.iii.1) CATT-WB (Whole blood)

Ce test est effectué sur du sang entier non dilué piqué au bout du doigt du patient. Le sang est mélangé à

un réactif contenant l'Ag LiTat 1.3 et mis en agitation pendant cinq minutes à 60 tours par minute (tpm). Un résultat négatif se caractérise par l'absence d'agglutination visible à l'œil nu. Ce test est très sensible mais donc peu spécifique.

I.C.2.a.iii.2) CATT-P (Plasma)

Ce test est effectué sur plasma dilué de manière séquentielle au demi, quart, huitième, seizième et trente-deuxième. On met en présence 25 µL de plasma dilué avec une goutte de réactif contenant l'Ag LiTat 1.3. Le CATT-P est lu de la même manière que le test précédent.

Ce test est plus spécifique que celui sur sang total et réduit le taux de faux positifs.

I.C.2.a.iii.3) Algorithme d'utilisation du CATT

Le CATT-WB est très sensible, 91% en moyenne, ce qui limite les faux négatifs(3). La Valeur Prédictive Négative (VPN) est de 99% à 100%.

Plusieurs situations mettent ce test en défaut :

- Tout d'abord, lorsque le patient se trouve dans la fenêtre sérologique. Une recherche parasitaire peut donc être nécessaire en cas de signe clinique ou biologique évocateur de THA.
- Ensuite, si le parasite n'exprime pas l'Ag LiTat 1.3, ce qui arrive plus fréquemment dans quelques zones d'endémie, le test sera moins sensible. C'est le cas par exemple au Sud du Nigeria, en Ouganda, au Cameroun(101)(102)(103). C'est pourquoi la sensibilité varie de 87% à 98%(96).
- Un phénomène de zone est possible lorsque la quantité d'Ac présente dans le sang du patient est trop élevée. Il a été proposé de rajouter un anticoagulant chélateur du calcium, l'Éthylène Diamine Tétra-Acétique (EDTA), au tampon pour inhiber le complément C1 qui joue un rôle important dans le phénomène de zone. Ce qui permet d'augmenter la sensibilité en diminuant légèrement la spécificité(104)(105).

Le CATT-WB n'est pas utilisable sur le LCR.

L'utilisation du CATT-P, avec dilution du plasma, est rendue nécessaire lorsque le CATT-WB est positif, afin d'augmenter la spécificité du test.

En effet, malgré la très bonne spécificité du CATT-WB, aux environ de 95%, son utilisation en tant que dépistage de masse dans des pays où la prévalence de la maladie est généralement faible, inférieure à 5%, rend la Valeur Prédictive Positive (VPP) insuffisante. Par ailleurs, la possibilité de réactions croisées

avec des pathologies présentes dans les pays endémiques, malaria ou filariose, nécessite d'augmenter les performances du CATT-WB(3).
Le CATT-P permet d'augmenter la spécificité en fonction de la prévalence de la maladie du sommeil dans la population et du « cut-off » utilisé. Les algorithmes de dépistage doivent donc être adaptés à la situation épidémiologique de chaque région(3).
Les résultats du CATT-WB puis du CATT-P ne doivent pas être utilisés seuls pour guider le traitement de la maladie du sommeil. Une confirmation parasitologique est nécessaire.

Parmi les précautions d'utilisation de ce test, notons de plus qu'il est nécessaire de l'entreposer à 4°C au long cours. Si les réactifs sont gardés à température élevée, supérieure à 45°C, le coffret non reconstitué se conserve au moins une semaine. S'il est maintenu entre 2°C et 8°C, il est utilisable une semaine après reconstitution. Lors de températures supérieures à 37°C, le test n'est viable que huit heures après reconstitution. Ceci en limite l'utilisation lorsqu'une chaine du froid n'existe pas, et pose problème lors des dépistages passifs de personnes se pensant infectées et se déplaçant jusqu'au dispensaire qui n'est pas forcément équipé en réfrigérateur. Dans ce cas, une recherche parasitologique est souvent nécessaire pour palier cet inconvénient(98).

I.C.2.a.iii.4) CATT-FP (CATT-Filter Paper)

Lorsque les équipes mobiles ne peuvent accéder aux sites de dépistage avec les tests, il peut s'avérer nécessaire de collecter les échantillons et de les conserver. Une méthode de prélèvement sur papier buvard de sang coagulé a donc vu le jour et est utilisée pour de nombreux tests sérologiques. Après avoir déposé des gouttes de sang sur papier filtre, les prélèvements sont séchés à l'abri de l'humidité. Les conserver à 4°C permet de les utiliser plusieurs mois après. Leur utilisation consiste à découper 5 rondelles de papier de cinq millimètres à l'emporte pièce (« confettis ») et à les réhydrater avec 100 µL de tampon.

Dans le cas du CATT, la technique s'appelle donc le CATT-FP.

Deux techniques sont possibles : le micro-CATT et le macro-CATT.
Le micro-CATT utilise des confettis comme décrit ci dessus et a été utilisé pour la première fois en 1991(106). Lorsque le test est effectué plus d'une journée après le prélèvement, la diminution de la sensibilité peut s'avérer problématique lorsque les prélèvements sont conservés à température ambiante et effectués en différé comme dit par Truc(107) qui trouve une sensibilité de 89,4% à J0 pour atteindre 50% à J7. Lorsque le micro-CATT est conservé de manière adéquate, la sensibilité ne diminue pas significativement par rapport à J0. L'interprétation et la lecture sont difficiles du fait du faible volume d'échantillon.

Le macro-CATT est une technique dérivée de la première permettant d'augmenter le volume de l'échantillon testé et de concentrer les Ag servant à la détection. Un nombre plus important de rondelles, 9, de taille plus importante (six millimètres de diamètre) que la normale sont éluées avec 150 µL de tampon CATT. L'Ag CATT est reconstitué avec 1,25 mL de tampon au lieu des 2,5 mL usuels pour en augmenter la concentration. Puis un volume de 30 µL de prélèvement est mélangé avec 25 µL d'Ag CATT. La sensibilité trouvée par Chappuis(108) est de 91% et n'est pas significativement altérée par une conservation de l'échantillon 14 jours à température ambiante (sensibilité de 94%). Ces résultats prometteurs nécessitent cependant de plus amples études de la VPN et de la VPP.

I.C.2.a.iv Le test latex/*T. b. gambiense*

Le test d'agglutination latex/*T. b. gambiense* fonctionne de la même manière que le CATT à la différence que les Ag utilisés sont des Ag de surface au nombre de 3 (LiTat 1.3, 1.5 et 1.6) couplés à des particules de latex.

La présence des 3 antigènes dans le réactif fait que ce test est plus spécifique que le précédent mais moins sensible, ce qui ne lui confère pas d'indication en première intention. Des études ultérieures sont nécessaires pour objectiver la place de cette technique dans les algorithmes de décision(96).

I.C.2.a.v Tests de Diagnostic Rapide (TDR)

Le CATT, dont nous venons de parler, est adapté à des dépistages de masse. La mauvaise conservation de son réactif antigénique à température ambiante après reconstitution pose le problème de l'utilisation du coffret dans des dispensaires où les dépistages passifs sont de plus en plus nombreux mais où le nombre d'examens effectués n'est pas suffisant pour rentabiliser le test, qui après reconstitution permet de réaliser une cinquantaine d'examens.

Des TDR sont actuellement à l'étude (Figure 15). Ils sont stables à température ambiante et ne nécessitent aucune adjonction de matériel.

Ces tests immunochromatographiques sont basés sur la détection des Ac chez le patient après migration de l'échantillon le long d'une bandelette. Les Ag utilisés dans ces tests sont des glycoprotéines de surface de *T. b. gambiense* purifiées de type LiTat 1.3 et LiTat 1.5 fixées sur la bandelette. Ces tests se font sur des échantillons de sang, plasma ou sérum.

Après des essais de phase II mené en Afrique centrale montrant une sensibilité allant de 89% à 99% et une spécificité allant de 95% à 99%, deux coffrets ont été commercialisés : *SD Bioline HAT* sur plama et *HAT Sero-K-Set* sur sang total ou plasma(109)(3).

Figure 15 : photo des deux TDR commercialisés à ce jours (d'après les fiches produit des tests(110)(111))

Des résultats semblables ont été trouvés dans une étude menée en Afrique de l'Ouest, en Guinée et en Côte d'ivoire avec une sensibilité de respectivement 99,6% et 99,1% et une spécificité de 87,9% et 88,3% sans différence significative entre les deux tests, que ce soit pour la sensibilité ou la spécificité(15). La spécificité est basse comparée à celle du CATT-WB mais l'utilisation séquentielle des deux TDR permet d'augmenter la spécificité de manière significative à 93,4%. La spécificité en combinant un des deux TDR et l'immuno-trypanolyse est supérieure à 99%. Cette spécificité n'est pas significativement différente de celle obtenue en utilisant les deux TDR de manière séquentielle.

L'utilisation isolée des TDR doit être considérée avec précaution à cause de la faible spécificité du test(15). Les conseils d'utilisation des TDR sont les mêmes qu'avec le CATT. Une confirmation parasitologique est nécessaire.

Des TDR de deuxième génération utilisant des Ag recombinants, moins chers et plus faciles à fabriquer, sont en cours d'évaluation et permettraient la détection des deux sous-espèces parasitaires pathogènes pour l'Homme avec une plus grande spécificité(4).

I.C.2.a.vi Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assays (ELISA)

La technique ELISA indirecte a été décrite en 1972 et appliquée avec succès au diagnostic de la maladie du sommeil(112).

Les Ag utilisés initialement étaient peu spécifiques et issus d'extraits de trypanosomes obtenus à partir de lysats bruts avec des risques de réactions croisées. C'est encore la méthode utilisée pour rechercher le parasite rhodésien(3).

La découverte d'Ag issus des glycoprotéines variables de surface du trypanosome et retrouvés sur les différentes souches du parasite gambien a permis d'améliorer la technique et d'utiliser des Ag purifiés, stables, lyophilisés au lieu de lysats bruts de trypanosome(112). Actuellement, les Ag purifiés utilisés sont les VATs LiTat 1.3 et LiTat 1.5.

Ce test peut être effectué sur des sérums, des plasmas, des échantillons fixés sur papier filtre ou du LCR. Récemment, l'ELISA a été testée avec succès sur la salive des patients. Cependant des essais diagnostiques supplémentaires sont nécessaires afin de confirmer ce premier résultat. Le diagnostic de THA par ce moyen non invasif serait une avancée majeure(113).

Après avoir étudié différents travaux portant sur la technique ELISA, l'OMS a, dans sont rapport sur la surveillance et le contrôle des THA, conclu que la sensibilité du test pour la recherche de *T. b. gambiense* s'échelonne de 95% à 100% pour une spécificité de 97% à 100% en fonction des Ag choisis et des échantillons testés(3).

I.C.2.a.vii Nouveaux Antigènes

Les techniques évoquées ci-dessus, à l'exception de l'immuno-trypanolyse et de l'IFI, utilisent, pour la détection du trypanosome gambien, des Ag purifiés, stabilisés et lyophylisés.

Ces Ag sont purifiés à partir de trypanosomes recueillis chez des rongeurs trypanosomés entretenus en animalerie dans des laboratoires. Des accidents de laboratoires sont possibles ce qui représente une limite à cette méthode.

Une autre limite de la technique actuelle de production des Ag VATs LiTat 1.3 et LiTat 1.5 est la possibilité de réactions croisées avec des épitopes non spécifiques qui sont toujours présents à la fin de la purification. En effet, des parties non exposées, lorsque le parasite est vivant, des VSGs de surface du trypanosome sont présents après purification et risquent de provoquer des réactions croisées entrainant des faux-positifs ce qui diminue la spécificité des tests comme le CATT. Le développement de nouveaux Ag est à l'étude.

Pour limiter les réactions croisées, l'utilisation de protéines recombinantes possédant uniquement les épitopes spécifiques de *T. b. gambiense* est à l'étude. Ces protéines qui mimiquent les épitopes du trypanosome sont appelées mimitopes. Ces nouvelles protéines recombinantes sont isolées pour leur capacité à se lier aux IgG des patients trypanosomés et donc leur spécificité(114)(115). La possibilité de l'utilisation des Ag recombinants a été testée avec succès dans deux études. Une étude évaluant les TDR a comparé entre autre, un test utilisant des Litat 1.3 natifs et un test utilisant des Litat 1.3 recombinants. Le résultat montre que ces deux Ag sont sensibles et spécifiques bien que les Ag natifs soient un peu plus spécifiques(116). Une autre étude à comparé la sensibilité et la spécificité des Litat 1.3 et Litat 1.5 natifs et recombinés utilisés lors de tests ELISA. La différence mise en évidence n'est pas significative mais penche dans le sens de l'utilisation possible des Ag recombinants à la place des Ag natifs(117).

Les trypanosomes possèdent, au niveau de leur membrane cellulaire, des protéines de surface autre que les VSGs. Elles sont présentes en quantité moins importante que ces dernières et sont réparties sur toute la surface du parasite. Ce sont des *Invariant surface glycoproteins* ou ISGs. Ces protéines semblent jouer

un rôle dans l'endocytose et l'adressage des éléments internalisés par le parasite. De plus ces ISGs semblent être des protéines antigéniques qui présentent l'avantage de ne pas être variables. Elles sont actuellement étudiées comme cibles thérapeutiques, dont vaccinales, mais font aussi l'objet de recherche dans le développement d'outils diagnostiques(118)(115). Une étude a évalué la sensibilité et la spécificité d'un test immunochromatographique utilisant deux Ag que sont un VSG soluble le sVSG117 et un ISG le rISG65. La sensibilité et la spécificité du test pour la détection de *T. b. gambiense* étaient de 97,3% et 83,3% respectivement. Si la sensibilité est équivalente au CATT, la spécificité reste médiocre. En ce qui concerne la détection de *T. b. rhodesiense*, la sensibilité et la spécificité étaient de 83,9% et 85,3% si l'on considère que la présence d'une bande sur les deux suffit à poser la diagnostic. Ce résultat permet de penser que l'utilisation des ISG serait possible et utile pour le diagnostic des deux sous-espèces bien que le choix des Ag soit à affiner(119).

I.C.2.b Détection moléculaire

La détection moléculaire appartient aux techniques indirectes de diagnostic de la maladie.

Ces techniques permettent l'amplification d'ADN ou d'ARN des trypanosomes. De même, différentes cibles sont utilisées pour détecter le groupe *Trypanozoon* ou pour détecter les sous-espèce *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense*. Leur sensibilité et spécificité varient en fonction de la séquence cible choisie (Tableau V).

I.C.2.b.i Séquences cibles

Le choix de la séquence de l'amorce est primordial et détermine la sensibilité et la spécificité du test. La séquence cible doit être unique et ne détecter que le parasite ou le sous-groupe recherché. Cette séquence doit aussi être suffisamment conservée chez le parasite pour éviter les faux négatifs. Elle doit aussi être suffisamment répétée pour que les brins amplifiés soit en quantité détectable à la fin de la *polymerase chain reaction* (PCR). En fonction de la cible choisie, la technique permettra de mettre en évidence le sous-genre *Trypanozoon* ou la sous-espèce *T. b. gambiense* ou *T. b. rhodesiense*(5).

I.C.2.b.i.1) Sous genre Trypanozoon

Une séquence cible d'ADN satellite de 177 paires de base (pdb) a été mise au point en 1989(120). Cette séquence contient des milliers de copie dans le génome du parasite. Des techniques de PCR classiques ou en temps réel on été décrites de même qu'une technique d'ADN branché que nous développerons dans le chapitre I.C.2.b.ii.4) « Technique de l'ADN branché ». Des PCR précédées d'une étape d'amplification par déplacement multiple (MDA) ont été développées (I.C.2.b.ii.1)a) « PCR classique ») (Tableau V) (5). En 2014, une technique par PCR en temps réel avec Sybr Green a été mise au point.

Cette technique semble suffisamment sensible, avec un seuil de détection à 100 trypanosomes/mL, et spécifique pour être utilisée en routine diagnostique(121).

Des sites d'expression des gènes six et sept (*expression-site-associates genes 6/7 :* ESAG6/7) ont été mis en évidence comme cibles potentielles pour les *Trypanozoon*. Ces séquences sont moins répétées que l'ADN satellite et présentent potentiellement une sensibilité moindre(5). On trouve des techniques de PCR simples ou nichées comme développé dans le chapitre I.C.2.b.ii.1)b) (Tableau V).

L'utilisation de séquences conservées, parmi le genre *Trypanozoon,* d'éléments génétiques mobiles répétés (RIME), en tant que cible d'amplification à médiation par boucle (LAMP), permet d'identifier le genre avec un bon seuil de détection comme développé au chapitre I.C.2.b.ii.3) (Tableau V) (115).

L'utilisation de cluster de gènes non codant de l'ARN ribosomal du parasite ou de l'ADN ribosomal 18S (*18S rDNA*) comme cible de différentes techniques de biologie moléculaire paraît intéressante pour différencier le genre *Trypanozoon* des autres espèces de trypanosomes en fonction de la variation de taille des amplicons obtenus. Des techniques de Fluorescent fragment-length barcoding (FFLB), que nous reverront dans le chapitre I.C.2.b.ii.5)a) « Fluorescent fragment-length barcoding (FFLB) », ou de PCR à flux latéral ciblent l'18S rDNA ont été développées(Tableau V). Lorsque la cible utilisée est l'ARN ribosomal 18S directement, des techniques d'amplification d'acide nucléique spécifique (NASBA) et d'acides nucléiques peptidiques par fluorescence *in situ* (PNA-FISH) sont possibles comme décrit aux chapitres I.C.2.b.ii.2) et I.C.2.b.ii.5)b) respectivement(5).

Une amélioration a été apportée en ciblant une séquence non codante interne de cet ADN ribosomal : le « *first internal transcibed spacer* » (ITS-1) qui a montré une sensibilité de 95% sur des échantillons sanguins(123). Des PCR nichées ou classiques, précédées ou non de MDA, sont disponibles pour cette cible (Tableau V).

I.C.2.b.i.2) Sous-espèces pathogènes pour l'Homme

Parmi le genre *Trypanozoon*, seuls *T. b. gambiense et T. b. rhodesiense* sont pathogènes pour l'Homme. Des stratégies thérapeutiques différentes sont utilisées en fonction de la sous-espèce. De plus la présence concomitante des deux parasites en Ouganda rend la distinction entre les deux sous-espèces indispensable. Le développement de PCR permettant, *via* des sondes spécifiques, de les différencier paraît d'une grande utilité.

L'inconvénient principal des deux cibles identifiées, que ce soit le gène *TgsGP* pour *T. b. gambiense* ou le gène SRA pour *T. b. rhodesiense,* jusqu'à présent est le peu de copie de ces gènes dans le génome des parasites concernés. La sensibilité des techniques de PCR avec ces deux séquences cibles est donc diminuée par rapport aux méthodes de détections moléculaires mises au point pour détecter le genre *Trypanozoon* dont les gènes cibles possèdent plusieurs copies(5).

I.C.2.b.i.2)a) Sous-espèce *T. b. gambiense*

Le gène *TgsGP* code pour une glycoprotéine de surface de *T. b. gambiense* : la *T. b. gambiense*-specific glycoprotein (TgsGP). Ce gène de 47 kDa est une séquence cible de choix pour les PCR(124). Une technique de PCR nichée serait intéressante pour augmenter la sensibilité des techniques de biologie moléculaire utilisant cette cible(125).

L'ADN kinétoplastique mini-cercle peut être utilisé pour différencier les trypanosomes référencés de différents Pays africains. L'étude réalisée se compose d'une PCR suivie d'un southern blot, correspondant à l'hybridation spécifique des amplicons de *T. b. brucei, T. b. gambiense et T. b. rhodesiense* avec des sondes marquées. Les résultats paraissent prometteurs pour identifier *T. b. gambiense* groupe I(126).

Actuellement, le génome du parasite gambien est en cours de séquençage. De nouvelles séquences d'ADN pourraient être mises en évidence pour spécifiquement détecter ce parasite(5).

I.C.2.b.i.2)b) Sous-espèce *T. b rhodesiense*

Le gène *SRA* est, à notre connaissance, le seul gène identifié pour isoler spécifiquement le parasite rhodésien(127). Comme déjà dit plus haut au chapitre I.A.2.a « Classification du parasite », il a été montré que *T. b .gambiense* est intrinsèquement résistant au facteur de lyse des trypanosomes (FLT) présent dans le sang humain, alors que *T. b. rhodesiense* y est résistant *via* l'expression d'un gène de résistance à la lyse. *T. b. rhodesiense*, dans sa forme résistante au sérum humain, exprime une protéine codée par un marqueur moléculaire spécifique : le gène *SRA* (*Serum Resistance-Associated*). La séquence de ce gène est bien conservée chez le parasite dans toute l'Afrique de l'Est et permet d'envisager un nouveau mode d'identification de cette sous-espèce. Ce mode d'identification n'est pas envisageable pour *T. b. gambiense* qui ne possède pas ce gène(128)(127)(129).

Le développement d'autres séquences cibles permettant l'identification de cette sous-espèce parasitaire paraît peut probable lorsque l'on considère que le génome de *T. b. rhodesiense* est très proche de celui de *T. b. brucei*(5).

Des techniques de PCR et de LAMP, revue au chapitre I.C.2.b.ii.3) « Amplification à médiation par boucle (LAMP) », ciblant cette séquence ont été développées (Tableau V). L'OMS en 2013 dans son rapport sur le contrôle et la surveillance des THA rapporte pour la PCR classique ciblant la séquence du gène *SRA* une sensibilité allant de 96% à 100% sur des échantillons sanguins et une spécificité de 100%(3).

I.C.2.b.ii Les différentes techniques

Nous allons exposer les différentes techniques utilisées pour la détection moléculaire du trypanosome.

Ces différentes techniques ciblent les séquences d'ARN ou d'ADN développées ci-dessus.

I.C.2.b.ii.1) Polymérase Chain Réaction (PCR) et dérivés

I.C.2.b.ii.1)a) PCR classique

La PCR permet d'amplifier des séquences cibles d'ADN de trypanosomes à partir d'une faible quantité d'acide nucléique.

Lorsqu'une faible quantité d'ADN est présent dans l'échantillon, il existe une technique d'amplification par déplacement multiple (MDA) qui permet d'amplifier tout le génome et d'augmenter la quantité d'ADN, dont l'ADN cible, pour la PCR ultérieure(5). Cette technique a été utilisée pour mettre en évidence le trypanosome avec un seuil de 0,025-1 trypanosome/réaction lors de MDA suivie d'une PCR classique ciblant l'ADN satellite (177 pdb) ou 2,5-10 trypanosomes/réaction lors de MDA suivie de PCR classique ciblant ITS1(130).

L'inconvénient principal de ces méthodes, quel que soit son mode de révélation (point final ou temps réel), repose sur la demande importante en logistique et son coût élevé, facteur rapidement limitant en zone d'endémie de la trypanosomose(121).

Une méthode par Oligo-chromatographie (OC) aussi appelée en flux latéral a donc été développée pour simplifier la technique. Les amplicons de la PCR sont visualisés après hybridation avec une sonde conjuguée à l'or et migration sur une bandelette. La technique est décrite pour les trypanosomoses en 2006 et testée avec succès en 2007 en prenant pour cible l'ADN ribosomal 18S mais elle nécessite encore d'être évaluée(131)(132). Cette méthode permet de détecter jusqu'à un parasite pour 180 µL de sang. La quantification de l'ADN n'est pas possible par ce biais(131).

La sensibilité moyenne de la PCR, pour détecter les trypanosomes, pratiquée sur des échantillons sanguins est de 99% et la spécificité de 97,7%. Sur des échantillons de LCR, la sensibilité est évaluée entre 87,6% et 100% et la spécificité entre 55,6% et 82,9%. La différence de spécificité peut s'expliquer par la varaiabilité dans le nombre de patients inclus dans les trois essais desquels sont tirés ces spécificités, de même que la variabilité dans la séquence amplifiée (ADN satellite et ADNr 18S). Ces chiffres sont donc à prendre avec réserve surtout que les faux positifs ont été estimés lorsque la PCR était positive sans présence de parasites détectés dans le LCR sans tenir compte de la cytorrachie. Ainsi il faudrait évaluer la PCR sur un panel plus important de manière standardisée pour que ces résultats soient validés(133).

I.C.2.b.ii.1)b) PCR nichée

La PCR nichée sert à augmenter la sensibilité de la PCR lorsqu'il existe des séquences d'ADN homologues

à l'ADN cible qui risquent d'être amplifiées en même temps que la séquence qui nous intéresse. Dans ce cas, une amorce spécifique dite « externe » est rajoutée afin d'amplifier une séquence d'ADN qui contient le fragment qui nous intéresse. Puis l'amorce dite « interne » est rajoutée en excès et va cibler la séquence que l'on souhaite amplifier et qui se trouve en quantité plus importante que les séquences homologues potentielles.

Cette technique de PCR nichée a été exploitée en utilisant comme cible : ESAG6/7 (seuil de détection 0,5 trypanosome/réaction au lieu de 5 trypanosomes/réaction lors d'une PCR classique), ITS1 (seuil de détection de 1 trypanosome/réaction au lieu de 100-10 000 trypanosomes/réaction en PCR classique) et *TgsGP* (seuil de détection de 1 trypanosome/réaction au lieu de 100 trypanosomes/réaction en PCR classique) (Tableau V) (5).

I.C.2.b.ii.1)c) PCR multiplexe

La PCR multiplexe permet d'obtenir différentes séquences d'ADN en une seule PCR en mélangeant au Mix plusieurs sondes spécifiques des séquences que l'on souhaite obtenir. Cette méthode a été décrite pour différencier *T. b. rhodesiense* de *T. b. brucei* en utilisant pour cible le gène *SRA* avec un seuil de détection de 1 à 10 trypanosomes/réaction. Une deuxième sonde ciblant le gène codant pour la glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase C (GPI-PLC) permet, au cours de la réaction, de vérifier la présence de l'espèce *T. brucei,* que ce soit *T. b. rhodesiense* ou *T. b. brucei,* chez qui ce gène est présent(134) (Tableau V).

I.C.2.b.ii.2) Amplification d'Acide Nucléique Spécifique (NASBA)

La NASBA a été développée en 1991 et testée pour les trypanosomoses en 2007. Son avantage majeur réside dans sa capacité à pouvoir être réalisée à température constante de 41°C sans besoin de thermocycleur. La première étape consiste, grâce à une transcriptase inverse, à synthétiser de l'ADN complémentaire à partir des brins d'ARN. L'étape de dénaturation n'est pas nécessaire grâce à la présence d'une ribonucléasease qui dégrade l'ARN qui a servi de trame à la polymérisation de l'ADN. Puis l'ARN polymérase, après fixation d'une sonde spécifique sur le brin d'ADN synthétisé, crée de nombreux brins d'ARN à partir de la séquence d'ADN complémentarie. Puis la réaction reprend à la transcription inverse de l'ARN (Figure 16).

La basse température peut malheureusement augmenter les hybridations non spécifiques et diminuer grandement la spécificité. Un autre inconvénient relève de l'instabilité de l'ARN qui nécessite une logistique poussée de conservation de l'échantillon avec la nécessité d'une chaine du froid.

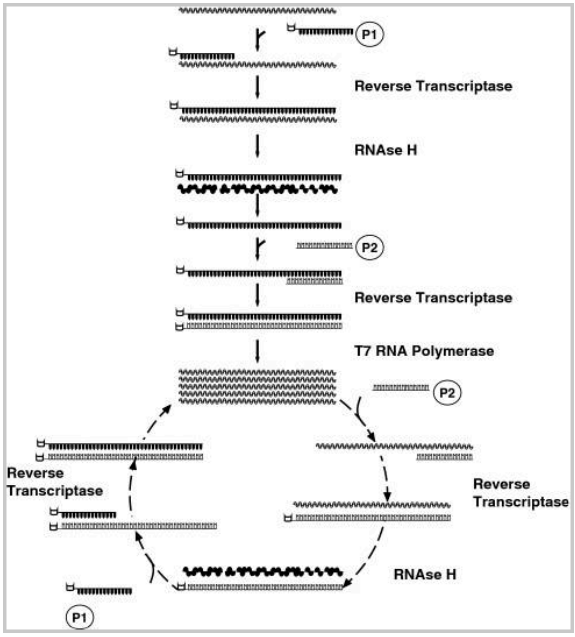


Figure 16 : principe du NASBA (d'après(135))

La séquence cible utilisée à ce jour est la petite sous-unité 18S de l'ARN ribosomal. La détection des amplicons peut se faire par deux méthodes : une méthode en temps réel, qui a une limite de détection de 10 trypanosomes/mL et une technique en flux latéral qui a une sensibilité supérieure aux méthodes microscopiques de détection du parasite avec une sensibilité de 73% sur des échantillons de sang (57,1% pour les méthodes microscopiques) et une sensibilité de 88,2% sur le LCR (86,2% pour les méthodes microscopiques)(136)(137).

I.C.2.b.ii.3) Amplification à médiation par boucle (LAMP)

L'amplification à médiation par boucle, aussi appelée test d'amplification isotherme à médiation par boucle, se fait à température constante comme la technique précédente. Mais la méthode permettant d'éviter l'étape de dénaturation n'est pas identique.

La réaction se divise en deux étapes : l'étape d'initiation qui aboutit à la formation d'un brin d'ADN complémentaire terminé par deux boucles aux deux extrémités 5' et 3' et qui va servir de sonde et de trame à la deuxième étape. La deuxième étape est celle de l'amplification cyclique.

La réaction est initiée par une sonde comportant deux séquences (Figure 17 : FIP) : la première séquence (F2) s'apparie à l'ADN à amplifier (ou ARN), ce qui permet d'initier la réaction, et la seconde séquence de l'amorce (F1c), identique à une séquence sur l'ADN matriciel (F1c) et située à proximité de l'initiation de l'élongation. Cette séquence F1c reste libre dans le mélange (Figure 17 étape 1). Une boucle se forme par hybridation entre les deux séquences complémentaires (la séquence F1 nouvellement synthétisé et F1c appartenant à la sonde) une fois le brin d'ADN synthétisé et deshybridé par compétition de sa trame comme nous allons le développer ci-après. En effet, la phase de dénaturation est remplacée par

l'utilisation d'une deuxième sonde (Figure 17 : F3) qui s'apparie à une séquence située à l'extérieure du brin synthétisé et qui, lors de la synthèse d'ADN à partir de cette sonde, permet de deshybrider la séquence d'ADN formée précédemment (Figure 17 étapes 2 et 3). Sur l'ADN nouvellement synthétisé s'hybride la sonde BIP sur le même modèle que précédemment (Figure 17 18 étape 4) puis il y a élongation et le brin nouvellement synthétisé sera détaché de l'ADN matriciel par la sonde extérieure B3. Il y a donc formation d'un brin d'ADN avec deux boucles à chaque extrémité 5' et 3' en plus des deux séquences doubles brins synthétisées à partir des sondes F3 et B3 (Figure 17 18 étapes 3, 5 et 6).

L'ADN double boucle est l'élément initiateur de plusieurs séquences d'élongation à partir de la boucle et de la sonde hybridée sur la boucle ce qui permet d'allonger le brin à chaque réaction et de former de nouveaux brins d'ADN de plus en pus longs Figure 17 étape 7).

Nous avons donc dans cette PCR besoin de deux sondes sens et deux sondes anti-sens.

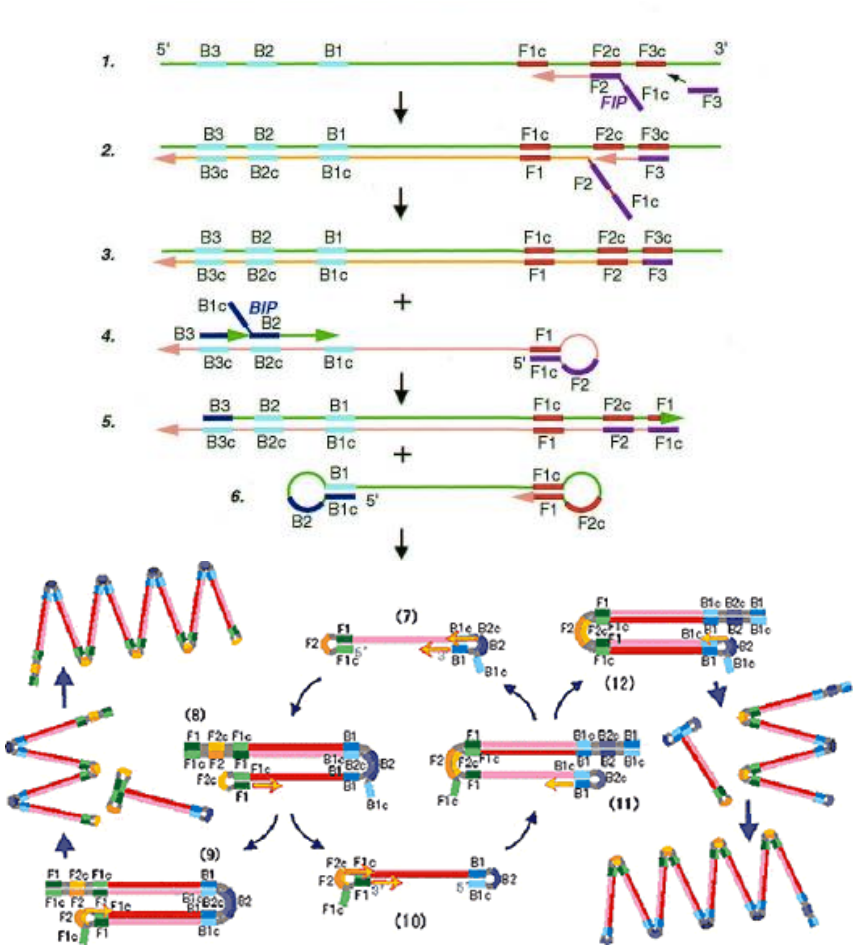


Figure 17 : principe de la LAMP (d'après(124))

La diminution de la spécificité des hybridations liée à la basse température est contre balancée par l'utilisation de sondes reconnaissant six séquences spécifiques de l'ADN cible. De plus la création d'une boucle aux extrémités des amplicons permet d'augmenter la taille de la séquence qui sert de trame à la deuxième réaction pour ensuite l'augmenter de façon exponentielle.

Lorsque la LAMP utilise les RIME comme séquence cible, le seuil de détection est évalué à 0,001 trypanosomes/mL avec une très bonne sensibilité et spécificité(138). En ce qui concerne la LAMP, ciblant le gène *SRA,* effectuée sur des échantillns sanguins sur papier filtre, la sensibilité est rapportée à 95%(5).
Différentes méthodes de détection ont été développées et comparées. Une méthode de détection utilisant le système en flux latéral permet une lecture rapide de la réaction. Le test qui semble le plus adapté utilise l'addition de bleu d'hydroxynaphtol avant l'incubation pour visualiser la réaction par l'apparition d'une couleur qui va du violet au bleu ciel en fin de réaction. Cette méthode est rapide, fiable, peu couteuse(139).
La sensibilité du test sur des échantillons sanguins s'échelonne de 90% à 97% et la spécificité de 59% à 99%(133).

I.C.2.b.ii.4) Technique de l'ADN branché

Contrairement aux techniques précédentes, cette technique de biologie moléculaire n'est pas de la PCR. La technique de l'ADN branché utilise plusieurs types de sondes. Un type de sonde dit de « capture » qui cible des régions d'ADN spécifiques de l'espèce *Trypanozoma brucei* et des séquences fixées sur un support ou sur l'ADN branché. Un autre type de sonde dit « branché » ou « ADN branché » se fixe sur le trypanosome immobilisé via la sonde de capture. Un dernier type de sonde, de « révélation », se fixe sur de l'ADN branché et sera la cible d'enzymes catalysant une réaction de chimioluminescence (Figure 18).

Cette méthode, dans une étude menée il y a 20 ans et ciblant plusieurs séquences d'ADN différentes du trypanosome dont les RIME et l'ADN satellite, paraissait prometteuse, peu couteuse, rapide, facile à exécuter et sur de larges échantillons de sang. Mais aujourd'hui des études complémentaires sont nécessaires pour la valider et déterminer la sensibilité et la spécificité de la technique vis à vis de différentes séquences d'ADN parasitaire(140).

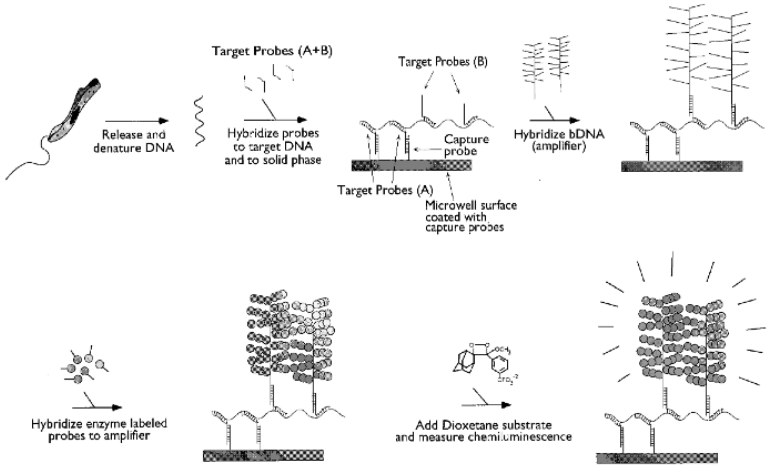


Figure 18 : schéma de la méthode de l'ADN branché (d'après(140))

I.C.2.b.ii.5) *Techniques utilisant la fluorescence*

I.C.2.b.ii.5)a) Fluorescent fragment-length barcoding (FFLB)

C'est une méthode de PCR utilisant des sondes fluorescentes et basée sur le polymorphisme de taille de la région ciblée. Chez le trypanosome, deux régions sont utilisées pour chaque ADN ribosomaux 18S et 28S soit quatre régions. Chaque pdb ciblant ces régions est couplée à un fluorochrome différent. Après l'amplification, les amplicons couplés à un fluorochrome spécifique de chaque région, sont analysés dans un séquenceur d'ADN qui permet d'obtenir un profil spécifique basé sur la différence de taille de ces quatre fragments d'ADN. Lorsque la taille de ces régions d'ADN est la même entre plusieurs espèces il n'est pas possible de les différencier sur le profil des séquences obtenues et les autres techniques de PCR, comme celles décrites ci-dessus, sont nécessaires. L'utilisation de quatre séquences d'ADN au lieu d'une seule dans les techniques ciblant l'ITS-1 semble plus propice à l'identification d'espèce des différents trypanosomes (Tableau V) (141).

I.C.2.b.ii.5)b) Acides nucléiques peptidiques par fluorescence *in situ* (PNA-FISH)

Une technique de fluorescence-hybridation *in situ* (FISH) a été développée. Cette méthode utilise les acides nucléiques peptidiques (PNA). Les PNA sont des molécules possédant des bases similaires à l'ADN mais le desoxyribose phosphate qui relie les bases de l'ADN est remplacé, dans les PNA, par des structures augmentant la stabilité et le passage membranaire de ces dernières comme par exemple de la glycine. Parmi les avantages de l'utilisation des PNA par rapport à de l'ADN ou de l'ARN classique, la grande capacité de fixation de ces dernières à leur séquence cible permet de réduire la taille des sondes. Un marqueur fluorescent fixé à ces PNA permet de les visualiser au microscope à fluorescence (Figure 19). La cible utilisée pour l'utilisation de la PNA-FISH est l'rARN 18S. Le seuil de détection est calculé à 500 trypanosomes/mL et peut descendre jusqu'à 5 trypanosomes/mL si le prélèvement est centrifugé avant de le techniquer(142).

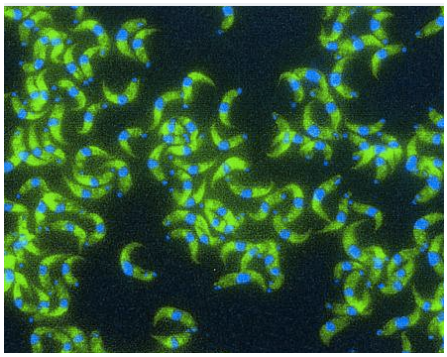


Figure 19 : visualisation au microscope à fluorescence de parasites purifiés de *T. b. rhodesiense* marqués par des PNA fluorescents (d'après(142))

Tableau V : limites de détection trouvés pour différentes techniques de biologie moléculaire (d'après(5))

Groupe parasitaire ciblé	Séquence cible	Technique	Limites de détection par réaction (en nombre de parasite)
Trypanozoon	ADN satellite	PCR classique	0,1
Trypanozoon	*ESAG6/7*	PCR nichée	0,1
Trypanozoon	*ESAG6/7*	PCR classique	5
Trypanozoon	ITS1 rDNA	PCR classique	100-1000 et 100-10 000 (deux techniques différentes décrites)
Trypanozoon	ITS1 rDNA	PCR nichée	1
Trypanozoon	18S et 28S rDNA	FFLB	10
Trypanozoon	ITS1 rDNA et ADN satellite	MDA suivi de PCR	2,5 (ITS1) et 0,025 (ADN satellite)
Trypanozoon	ADN satellite	PCR en temps réel	0,1
Trypanozoon	18S rDNA	PCR-OC	0,05
Trypanozoon	RIME	LAMP	0,001
Trypanozoon	18S rRNA	NASBA	0,005
Trypanozoon	18S rRNA	NASBA-OC	0,005
Trypanozoon	ADN satellite et RIME	ADN branché	10
Trypanozoon	18S rRNA	PNA-FISH	1
T. b. gambiense	*TgsGP*	PCR classique et nichée	100 (classique) et 1 (nichée)
T. b. gambiense	kDNA	PCR puis southern blot	-
T. b. rhodesiense	*SRA*	PCR classique	-

ESAG6/7=expression-site-associated genes 6/7. FFLB=fluorescent fragment-length barcoding.ITS1=first internal transcribed spacer. kDNA=kinetoplast DNA. LAMP=loop-mediated isothermal amplification. MDA=multiple displacement amplification. NASBA=nucleic acid sequence-based amplification. NASBA-OC=NASB-Oligochromatographique PNA-FISH=peptide nucleic acid fluorescence in-situ 59ybridization. RIME=repetitive insertion mobile element. rDNA=ribosomal DNA. rRNA=ribosomal RNA. *SRA*=serum-resistance-associated gene. *TgsGP*=*Trypanosoma brucei gambiense*-specific glycoprotein gene.

I.C.3 Examens de confirmation parasitologique

La suspicion clinique ou la positivité des examens précédents ne sont pas suffisantes pour engager un traitement contraignant et potentiellement toxique. La confirmation parasitologique est basée sur la détection directe du parasite qu'il soit vivant, et donc on le repère par sa mobilité, ou qu'il soit mort.

Lors de la phase lymphatico-sanguine, le parasite peut être détecté dans le sang et la lymphe, que ce soit le suc ganglionnaire ou dans l'exsudat du chancre d'inoculation.

Lors des stades tardifs, la détection du parasite dans le LCR permet certes un diagnostic de phase, mais s'avère parfois être le seul élément de confirmation parasitologique disponible.

- Lors d'infections à *T. b. gambiense,* la charge parasitaire sanguine peut être faible et inférieure à 100 parasites/mL mettant parfois la confirmation parasitologique en défaut. Des méthodes permettant d'augmenter la sensibilité des tests s'avèrent alors nécessaire tel que

l'analyse itérative d'échantillons prélevés sur des jours consécutifs ou encore l'utilisation de techniques de concentration et/ou d'aide à la visualisation du parasite.

- Lors d'infections à *T. b. rhodesiense,* la charge parasitaire sanguine est élevée, pouvant atteindre 10 000 parasites/mL. Toutes les techniques décrites pour le parasite gambien s'appliquent pour la mise en évidence de *T. b. rhodesiense* et sont plus sensibles. Néanmoins des techniques de détection simples sont possibles et plus fréquemment utilisées.

La recherche directe du parasite s'effectue sur des prélèvements frais avant que le parasite ne soit lysé. Un prélèvement frais doit avoir moins d'une heure pour avoir une quelconque utilité diagnostique ou être conservé entre 4°C et 8°C.

La recherche parasitologique peut parfois être négative sans que cela n'exclut le diagnostic définitivement. Le problème de l'instauration d'un traitement se pose alors.

I.C.3.a Examen direct simple parasitaire

I.C.3.a.i Examen de l'exsudat du chancre d'inoculation

C'est la technique de mise en évidence du parasite qui permet le diagnostic le plus précoce, lors de la prolifération *in situ* du parasite au lieu d'inoculation par la glossine et avant que le trypanosome ne gagne le sang de l'hôte infecté. Malheureusement, le chancre n'est pas toujours visible et passe parfois inaperçu en particulier avec le parasite gambien pour lequel cette méthode n'est jamais utilisée. Avec le parasite rhodésien, le chancre peut passer inaperçu dans 75% à 95% des cas comme nous l'avons vu au chapitre I.B.1 « Chancre d'inoculation ».

L'exsudat du chancre peut être observé à l'état frais entre lame et lamelle et permet de chercher des parasites mobiles à l'objectif 40 ; il peut aussi être étalé en un frottis mince que l'on colore au MGG. Les parasites colorés sont également recherchés à l'objectif 40.

C'est une technique simple, rapide et peu couteuse mais qui est souvent mise en défaut en fonction de l'espèce parasitaire et du stade de la THA.

I.C.3.a.ii Examen du suc ganglionnaire

Le suc ganglionnaire s'examine de la même manière que l'exsudat du chancre d'inoculation.

La sensibilité de cette technique dépend de l'existence de ganglions cervicaux qui doivent être systématiquement recherchés. La présence de ganglions dépend de l'espèce parasitaire en cause. Des adénopathies (ADNP) sont plus souvent rencontrées avec le parasite gambien. La sensibilité de l'examen dépend aussi du foyer où l'on retrouve ces THA. Simarro(143) a par exemple montré dans une étude en 2003 que cette technique, appliquée en Angola et en RCA, n'apporte pas de bénéfice par rapport au

CATT. La sensibilité de l'examen dépend aussi du stade parasitaire, la première phase présentant souvent plus de ganglions palpables que la deuxième phase. Enfin, La sensibilité de l'examen dépend de la concomitance de pathologies donnant des ADNP. La sensibilité varie donc de 40% à 80%(96).

I.C.3.a.iii Examens sur sang total

Les examens des échantillons sanguins sans méthode de concentration ont des seuils de détections élevés, supérieurs à 10 000 trypanosomes/mL ce qui rend cette méthode de diagnostic impropre à la recherche des parasites gambiens. Ces méthodes peuvent suffire à détecter des trypanosomes chez les patients sommeilleux à *T. b. rhodesiense* fortement parasités(3).

I.C.3.a.iii.1) État frais

L'état frais consiste à examiner entre lame et lamelle 5 µL à 10 µL de sang capillaire au grossissement × 400 afin de repérer les parasites mobiles et les érythrocytes qu'ils font bouger. La méthode est rapide, simple et peu couteuse ce qui explique qu'elle soit encore utilisée malgré sa faible sensibilité(3).

I.C.3.a.iii.2) Frottis sanguin coloré

La technique se réalise après étalement de 5 µL de sang capillaire en frottis mince sur une lame, puis fixation et coloration au Giemsa ou au colorant de Field. La sensibilité de cette méthode est équivalente à celle de l'état frais. La morphologie des trypanosomes peut ainsi être observée(3).

I.C.3.b Examens de concentration parasitaire

Les techniques de concentration parasitaire peuvent être utilisées quel que soit la sous-espèce de trypanosome en cause.

I.C.3.b.i Technique de la goutte épaisse

Cet examen parasitologique permet de détecter non seulement les trypanosomes mais aussi les microfilaires sanguins et les plasmodies.

La goutte épaisse n'est réalisée que lorsqu'aucune centrifugeuse n'est disponible. La morphologie des parasites étant fortement altérée par la préparation, il faut un observateur entrainé.

Le seuil de détection de l'examen est de 5 000 trypanosomes/mL. Ce qui est faible. La sensibilité se situe entre 26% et 35%(3).

La technique est contraignante, longue, de lecture difficile et, en fin de compte, peu rentable.

I.C.3.b.ii Technique d'hémolyse-concentration

Cette méthode diagnostique se réalise sur des prélèvements sanguins. L'augmentation de la sensibilité de l'examen est liée à la lyse des hématies qui ne doit pas entrainer la lyse du parasite, ce dernier étant fragile. Des techniques à base d'eau distillée, de saponine, de chlorure d'ammonium ou de tampon du commerce sont décrites. Les trypanosomes sont vivants mais peuvent être altérés dans leurs morphologies et leurs mouvements(3)(144). La technique de Knott consiste à mélanger du formol à 2% à l'échantillon. Cette technique permet de mieux conserver la morphologie des trypanosomes même s'ils sont morts(144).

A la suite de ces différentes techniques d'hémolyse, le prélèvement est centrifugé puis regardé au microscope, soit sans coloration entre lame et lamelle, ou avec coloration au Giemsa ou à l'acridine orange. L'acridine orange nécessite de regarder le prélèvement au microscope à fluorescence(145). L'utilisation de la technique d'hémolyse-concentration couplée à une coloration par l'acridine orange dans les programmes de dépistage n'est pour l'instant pas de mise mais serait intéressante.

I.C.3.b.iii Centrifugation en tube à micro-hématocrite

Cette technique, aussi appelée technique de centrifugation en tube capillaire (mHCT) ou test de Woo(146), du nom de la personne qui l'a décrite en 1969, se réalise en centrifugeant 50 µL de sang prélevé au bout du doigt du patient dans un tube capillaire contenant un anticoagulant (Figure 20). Les microcapillaires sont ensuite placés entre lame et lamelle et l'interstice entre les deux est rempli avec du liquide. Les trypanosomes mobiles sont observés dans la couche des leucocytes et des plaquettes, entre le plasma et les hématies (Figure 21). La lecture se fait à l'objectif 40.

Le seuil de détection du test est estimé à 500 trypanosomes/mL de sang et l'observation de quatre microcapillaires par patient permet d'en augmenter la sensibilité. Ce test est peu couteux et relativement rapide avec une sensibilité estimée à 56%(3). Il peut être utilisé pour le dépistage de masse. Il est à noter que la présence de microfilaires peut en gêner la lecture.

La lecture nécessite un observateur entrainé et une centrifugeuse à microcapillaires.

Figure 20 : photo d'une centrifugeuse à microcapillaires (d'après(147))

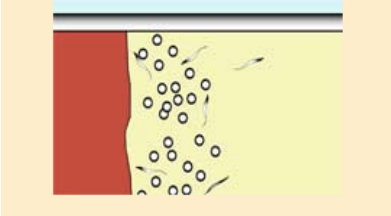


Figure 21 : schéma de trypanosomes dans la couche des leucocytes (d'après(10))

I.C.3.b.iv Technique de la couche leuco-plaquettaire (*Quantitative Buffy Coat)*

L'utilisation du QBC (*Quantitative Buffy Coat)* a initialement été mise au point pour compter les cellules et établir des formules leucocytaires. Puis elle a été étendue au diagnostic des parasites sanguicoles tels que *Plasmodium* ou *Trypanosoma*.

L'échantillon de sang total est centrifugé dans des tubes capillaires contenant un flotteur et enduits d'EDTA et d'acridine orange. La quantité de sang prélevée est d'environ 60 µL. Les trypanosomes se concentrent au niveau des leucocytes entre les hématies et le plasma. L'acridine orange permet de colorer le noyau et le kinétoplaste des parasites, encore mobiles, en vert fluorescent à la lumière violette. La lumière violette peut être produite par une source de lumière froide passant à travers un filtre approprié.

Le seuil de détection est inférieur à 500 trypanosomes/mL, entre 15 et 300 trypanosomes/mL. Cette technique est plus sensible que la technique de centrifugation en capillaire lorsque moins de huit tubes capillaires par patient sont utilisés. La sensibilité du test est de 95% pour une parasitémie à 450 trypanosome/mL(96). Elle est de sensibilité égale à l'ancienne version de la mAECT, que nous allons développer dans le chapitre suivant, soit entre 69% et 92%. La nécessité de tubes capillaires couteux et d'un microscope équipé d'un filtre adéquat, et d'observateurs aguerris ne permet pas d'utiliser cette technique lors des dépistages de masse de manière systématique. Tout comme la méthode précédente, la présence de microfilaires peut en gêner l'interprétation. Ce test permet, par contre, le diagnostic concomitant du paludisme(3).

I.C.3.b.v Technique de la mini-colonne échangeuse d'anions

La *Mini-Anion-Exchange Centrifugation Technique* (mAECT) est une technique basée sur la différence de charge des hématies et des trypanosomes, et est adaptée de la technique d'extraction des trypanosomes du sang des rongeurs en laboratoire. Au pH 8, les hématies sont chargées négativement alors que les trypanosomes ont une charge neutre. Un échantillon de 350µL à 500 µL de sang est passé à travers une résine échangeuse d'anion baignant dans un tampon permettant d'obtenir le pH souhaité. Les hématies sont retenues et les trypanosomes sont récoltés dans l'éluat. L'éluat obtenu est centrifugé à faible

vitesse pour concentrer les trypanosomes et est observé au microscope. Le seuil de détection de cette technique est de 30 trypanosomes/mL avec une sensibilité diagnostique de 77%(3).

Une autre technique dérivée de celle du QBC et de la mAECT est appelée mAECT-BC. Elle consiste à appliquer la méthode du QBC à 5 mL de sang du patient puis à ne passer que 500 µL de la couche leuco-plaquettaire, contenant potentiellement le parasite, à travers la résine. Le seuil de détection de la technique baisse à 10 trypanosomes/mL avec une sensibilité diagnostique de 96%(3).

La technique est longue, couteuse, spécifique des THA ce qui la rend peu rentable. Les résines sont actuellement disponibles grâce à l'aide de l'*Institute of Tropical Medicine* d'Anvers(96).

I.C.4 Examens pour le diagnostic de phase

En fonction du stade clinique de la THA en cause, des stratégies thérapeutiques différentes sont choisies. Le diagnostic de phase est donc indispensable afin de ne pas administrer des traitements potentiellement toxiques sans raison.

Nous avons constaté dans le Tableau III que la phase I de l'infection par le trypanosome gambien dure approximativement 18 mois et celle de l'infection par le trypanosome rhodésien dure de quelques jours à trois semaines. L'estimation la durée de la phase I ne suffit pas à déterminer si le patient est dans la phase hémato-encéphalique de la maladie. Le diagnostic de phase est posé sur l'examen du LCR.

La PL doit donc être pratiquée dès qu'il existe une suspicion clinique forte comme la présence de ganglions cervicaux par exemple, ou lorsque les tests sérologiques de dépistage sont positifs, afin de confirmer ou d'infirmer l'infection du SNC par le parasite.

Dans le cas de la THA à *T. b. rhodesiense,* ce diagnostic de phase est réalisé après une première dose de suramine pour diminuer la parasitémie du patient et éviter d'inoculer des trypanosomes dans le LCR du patient à l'occasion de la PL.

La phase II de la maladie du sommeil se caractérise par un processus inflammatoire avec une réponse immunitaire intrathécale, accompagnée ou non de la mise en évidence de parasites dans le LCR(148).

I.C.4.a Protéinorachie : non nécessaire

Cependant, il est à présent admis que la valeur absolue de la protéinorachie est un mauvais marqueur de phase de la maladie. En effet, les patients sommeilleux ont une hyperprotéinorachie avant même que le SNC ne soit touché. Cet état de chose reflète l'augmentation des immunoglobulines dans le sang périphérique du patient. L'augmentation du seuil pour définir une hyperprotéinorachie dans le cas d'un patient suspect serait certainement plus appropriée(148).

L'OMS ne conseille plus d'utiliser la protéinorachie pour stadifier les THA(3).

I.C.4.b Diagnostic de phase classique

L'OMS conseille à présent de déterminer le diagnostic de phase en se basant sur la cytorachie et la présence de parasite dans le LCR des patients suspects de THA.

I.C.4.b.i Numération de la cytorachie

La cytorachie ne doit jamais être déterminée sur du LCR dilué même en cas de LCR hémorragique. Le compte cellulaire est faible et diluer le LCR amènerait à une mauvaise évaluation de la cytorachie. Il est conseillé de lire la cellule de comptage à l'objectif 40 et d'effectuer deux comptes lors d'une cytorachie inférieure à 20 cellules/μL pour en augmenter la sensibilité.

Un patient dont la cytorachie est inférieure ou égale à 5 cellules/μL, sans trypanosome mis en évidence, est classé en phase I de THA.

Les patients dont la cytorachie est supérieure à 20 cellules/μL sont classés en phase II tardive.

La notion de phase II intermédiaire, située entre les deux cas précédents, était utile lorsqu'elle permettait de prescrire de la pentamidine au patient au lieu du mélarsoprol. Depuis l'utilisation du *Nifurtimox éflornithine combination therapy* (NECT) dans les phases II, cette classification intermédiaire a perdu de son utilité (voir ci-dessous le chapitre I.D sur les aspects thérapeutiques). Seuls les essais cliniques utilisent encore cette classification afin de n'inclure en tant que patients trypanosomés en phase II que les patients avec une cytorachie supérieure à 20 cellules/μL(3).

Les deux principaux leucocytes retrouvés dans le LCR des patients sommeilleux au stade II de THA sont des lymphocytes B et des plasmocytes ou cellules de Mott dont nous avons déjà parlé au chapitre I.C.1.a « Numération formule sanguine ». Ces cellules de Mott sont les producteurs des IgM intrathécaux. En effet, les IgM produits par les plasmocytes se concentrent dans les vacuoles cytoplasmiques de ces cellules leur donnant cet aspect mûriforme(149).

I.C.4.b.ii Mise en évidence des parasites dans le LCR

La présence de trypanosomes dans le LCR de patients suspects de THA permet de les classer directement dans la phase II de la maladie selon l'OMS(3).

Les techniques de concentration du parasite dans le LCR sont recommandées pour augmenter la sensibilité de la recherche. Une technique de centrifugation simple, dans une pipette pasteur scellée à une extrémité ou dans les tubes utilisés pour la mAECT, est préférable aux centrifugations classiques(3)(150).

I.C.4.b.iii Critères pour le diagnostic de phase

En combinant les données des deux chapitres précédents, I.C.4.b.i et I.C.4.b.ii, l'OMS conseille de classer en phase précoce hémato-encéphalique les patients avec une cytorachie inférieure ou égale à 5 cellules/µL de LCR sans détection du parasite. Les autres cas sont donc classés en phase tardive neurologique : une cytorachie supérieure à 5 cellules/µL de LCR et/ou la présence de trypanosomes dans le LCR (Tableau VI).

Tableau VI : résumé du diagnostic de phase selon les critères de l'OMS 2013 (d'après(3))

	Cytorachie	
	≤5 cellules/µL	>6 cellules/µL
Absence de Trypanosome dans le LCR	Phase I	Phase II
Présence de Trypanosome dans le LCR	Phase II	Phase II

LCR : liquide céphalo-rachidien

I.C.4.c Marqueurs biologiques du LCR en développement pour la stadification des THA

La stadification proposée par l'OMS, bien que nécessaire, s'avère manquer de sensibilité. Il a été rapporté des cas de patients avec des parasites dans le LCR et une cytorachie inférieure à 20 cellules /µL traités par pentamidine avec succès(148). De nouveaux marqueurs sont nécessaires pour limiter l'utilisation de molécules toxiques lorsqu'elles ne sont pas nécessaires(151).

I.C.4.c.i Recherche d'une réponse immunitaire humorale intrathécale

Durant la phase I et la phase II précoce, on note une augmentation de la concentration des IgM, IgG et IgA dans le LCR des patients. Cependant, ce n'est qu'en phase II tardive que les Ig s'accroissent rapidement, spécialement les IgM dont la concentration est multipliée par 40 en moyenne par rapport au sang périphérique. Il existe une synthèse intrathécale d'IgM lors de la phase II indépendante de la perméabilité de la BHE. Il est donc pertinent d'évaluer la synthèse intrathécale d'IgM chez les patients dans le diagnostic de phase.

En plus de la synthèse intrathécale d'immunoglubulines, il y a synthèse intrathécale d'Ac spécifiques anti-trypanosome notamment des IgG.

Dans une étude de 2002, le calcul de l'index des Ac sécifiques des trypanosomes couplé à la recherche des IgM intrathécaux a permis de détecter un processus inflammatoire humoral intrathécal dans 98,5% des patients en phase II. Différentes études corroborent ce phénomène(148)(149).

Des tests d'agglutinations ont été mis au point pour que la détermination de la synthèse intrathécale

d'IgM puisse se faire sur le terrain. Une méthode utilisant un réactif lyophilisé composé de particules de latex sensibilisées avec des Ac de souris anti-IgM humains a été évaluée : le LATEX/IgM. La détection de la synthèse d'IgM intrathécaux, lorsque le cut-off de la technique est supérieur ou égal à 8, montre une sensibilité de 89,4% et une spécificité de 92,7%(152). Une technique d'agglutination est aussi disponible pour les Ac spécifiques anti-trypanosomes : le LATEX/*T. b. gambiense.*

I.C.4.c.ii Autres marqueurs de la réponse immunitaire dans le LCR

Les trypanosomes stimulent le système immunitaire de l'hôte qu'ils infectent via la production de prostaglandines. Les cytokines pro-inflammatoires ainsi libérées vont agir sur leur environnement. Dans le système nerveux central (SNC), ces molécules entrainent des troubles neurologiques responsables de la phase II de la maladie(153).

Des molécules comme l'Interleukine-10 (Il-10), C-X-C *motif chemokine*-13 (CXCL-13), la métalloprotéase-9 (MMP-9), *intercellular Adhesion Molecue*-1 (ICAM-1) ou encore la néoptérine ont été étudiées comme marqueur potentiel d'infection. La néoptérine, produite par les macrophages et les cellules dendritiques activés par l'IFN-γ, semble être la molécule la plus sensible qui permettrait de ne pas méconnaître une THA en phase II et éviterait une issue fatale pour le patient. Le manque de spécificité de cette molécule est un inconvénient puisqu'elle est aussi un marqueur d'activité de la tuberculose et d'atteinte cérébrale lors des infections par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). La recherche de ce marqueur en association avec la recherche de parasite dans le LCR pourrait être applicable sur le terrain. La validité du test reste encore à étayer par des études à plus larges échelles et à comparer au gold standard de l'OMS(154).

La production d'Ac dirigés contre une molécule produite par le parasite, le *trypanosome-derived lymphocyte triggring factor* (TLTF), dans le sérum et le LCR des patients trypanosomés a été étudiée pour le diagnostic de phase. Ces TLTF ciblent les lymphocytes CD8+ et induisent la production d'IFN-γ. Ces TLTF sont produites par le genre *Trypanozoon* dont *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense.* La production d'Ac anti-TLTF dans le sang des patients infectés par le parasite gambien ne dépend pas du stade de la maladie mais n'est détectée que chez les patients en phase II dans le LCR des malades. L'interférence possible avec des infections intercurrentes chez ces patients ne peut être exclue. Des études ultérieures seraient les bienvenues sur le parasite rhodésien et sur l'effet de pathologies associées sur la production des Ac anti-TLTF. Cependant, la détection des Ac anti-TLTF pourrait être un bon marqueur de phase dans les THA(155).

I.C.4.d Place des tests de biologie moléculaire

Bien que très sensibles et spécifiques, les tests de biologie moléculaire n'ont pas montré de bénéfice

pour le diagnostic de phase des THA. En effet, la positivité de telles techniques dans des LCR de patients infectés, mais par ailleurs sans autre anomalie, contribue à prendre avec réserve l'utilisation de telles techniques lors de la stadification(3).

I.C.4.e Marqueurs de phase dans le sérum

La mesure de la concentration d'une enzyme : la *neuronal specific enolase* (NSE), marqueur sensible de l'atteinte des cellules nerveuses, qui diffuse rapidement à travers la BHE, a été évaluée chez des patients infectés par le parasite rhodésien. Les concentrations sanguines de la NSE sont significativement augmentés chez les patients en phase II de la maladie sans élévation dans le LCR. La sensibilité du marqueur est de 75% et sa spécificité de 72%, avec un cut-off de 10,4 ng/mL de sang. Bien que ces premiers résultats ne permettent pas une utilisation dans le diagnostic de phase de la maladie, la NSE est le premier marqueur sanguin de phase mis à jour. Cependant, d'autres pathologies entrainent l'augmentation de la concentration de la NSE comme les traumatismes cérébraux ou les ischémies cérébrales(156).

Des cytokines comme l'Interleukine-6 (Il-6) et l'Il-10 seraient des marqueurs de phase sanguins possibles. Ce phénomène a été observé pour *T. b. rhodesiense* qui présente une forme aiguë de la maladie(157). Dans d'autres foyers de la maladie à *T. b. gambiense* la concentrations des cytokines plasmatiques ne varie pas significativement avec la sévérité de la maladie ce qui est peut être en rapport avec le développement plus chronique de la maladie ou la souche de parasite incriminée(86).

La concentrations de TNF-α dans le sang des patients infectés serait un bon marqueur de la sévérité de la maladie(158).

I.C.5 Arbres diagnostiques

La lutte contre les THA en zones d'endémie repose sur deux piliers. Tout d'abord la lutte contre le vecteur, que nous ne développerons pas dans ce travail, et un second pilier qu'est le dépistage et le traitement des malades sommeilleux, particulièrement utiles en zone de *T. b. gambiense* car le parasite ne possède pas de réservoir animal.

Comme nous l'avons déjà évoqué, le dépistage se divise en dépistage de masse, très utile dans les foyers reculés et pauvres, et le dépistage passif qui se développe de plus en plus.

I.C.5.a Dépistage de masse

I.C.5.a.i Dépistage de masse pour *T. b. gambiense*

Des systèmes de modélisation ont permis d'évaluer qu'une tournée effectuée par une équipe mobile

détecte 50% à 80% des cas de THA mais dans certains foyers, seulement 50% de ces cas sont traités. Ces dépistages de masse ne sont efficaces que si la population locale se déplace. C'est pour cette raison que des campagnes d'information sur la maladie et sur l'utilité du dépistage sont primordiales en amont du dépistage. De manière concrète, l'OMS préconise un dépistage de masse annuel dans les zones d'endémie. Lorsqu'aucun cas n'a été déclaré pendant trois mois, la fréquence du dépistage peut être ramenée à trois ans.

Dans ces campagnes de masses, la première étape préconisée est sérologique. Elle consiste en la réalisation du CATT sur sang total puis, si ce test est positif, un CATT-P sur plasma ou sérum lorsque cela est possible, pour augmenter la spécificité du premier test. Lorsque les taux d'Ac sont supérieurs ou égales à 4 avec le CATT-P, le patient est dirigé vers la deuxième étape, parasitologique. Dans les foyers où la prévalence de la maladie évaluée est très faible, il est nécessaire d'augmenter le seuil à 8 pour diminuer les faux positifs et éviter des recherches parasitologiques inutiles.

La deuxième étape consiste à confirmer la suspicion sérologique par la recherche de la présence du parasite dans le sang ou le suc ganglionnaire voire le LCR pour le diagnostic de phase. Cette deuxième étape peut être entreprise directement par les équipes mobiles ou dans des dispensaires où sera adressé le patient suspect.

Plusieurs algorithmes, qui adaptent ces éléments de base à la prévalence de la maladie et aux moyens disponibles proches du lieu de dépistage, existent(3).

I.C.5.a.ii Dépistage de masse pour *T. b. rhodesiense*

Le dépistage de masse des maladies du sommeil à trypanosome rhodésien est inefficace à cause de la rapidité d'évolution de la maladie et de l'intervalle de temps qui sépare deux dépistages de masse.

Aucun test sérologique rapide utilisable sur le terrain pour le dépistage n'est disponible à ce jour, bien que des recherches soient en cours. Seul l'examen parasitologique permet le diagnostic de la maladie. Cet examen est plus rentable que pour la recherche du parasite gambien du fait de la forte parasitémie fréquente lors des infections par le parasite rhodésien.

I.C.5.b Dépistage passif

I.C.5.b.i Dépistage passif pour *T. b. gambiense*

Le dépistage passif concerne les patients symptomatiques qui se dirigent d'eux-mêmes vers les centres périphériques qui effectuent le dépistage.

Le premier obstacle de ce type de dépistage repose sur les signes cliniques. En effet, le tableau clinique des THA n'est pas spécifique de la maladie et une fièvre nue fera évoquer entre autre un paludisme, des

ADNP une tuberculose ou une primo infection VIH, une HSM fébrile avec anémie une leishmaniose. Cette liste n'est pas exhaustive mais permet de montrer que de nombreux diagnostics différentiels sont possibles et qu'aucune exploration active de la maladie du sommeil ne sera entreprise si le diagnostic n'est pas évoqué. Le personnel soignant doit être sensibilisé à la maladie, qui plus est dans des régions où la prévalence des THA diminue. Des algorithmes diagnostiques reposant sur un ensemble de symptômes semblent être des outils de choix. Les trois symptômes les plus pertinents, selon une étude menée en 2013, sont les troubles du sommeil, les troubles neurologiques et l'altération de l'état général. D'autres signes peuvent êtres recherchés en plus des trois précédents à savoir les oedèmes, les ADNP cervicales et la proximité de troupeaux de bétail. La valeur prédictive négative est de 98,8% ce qui permet de ne pas méconnaitre trop de cas et de bien cibler la population à dépister(159).

La réalisation du test sérologique de première ligne pose problème dans ce genre de situation à cause de l'absence fréquente de chaîne du froid dans ces dispensaires. Les tests CATT sont conditionnés par 50 et ne se conservent pas à température ambiante. Le coût-bénéfice de cette technique n'est pas efficace. D'autres tests sont nécessaires pour remplacer les CATT. Des tests de TDR, se conservant à température ambiante paraissent être une bonne alternative. Des techniques de LAMP ou de FFLB sont en cours d'étude comme nous l'avons vu au chapitre I.C.2.b.ii.3) « Amplification à médiation par boucle (LAMP) » et I.C.2.b.ii.5)a) « Fluorescent fragment-length barcoding (FFLB) »(5).

I.C.5.b.ii Dépistage passif pour *T. b. rhodesiense*

La plupart des diagnostics de maladie du sommeil à trypanosome rhodésien sont faits lors du dépistage passif.

Malheureusement, les patients lorsqu'ils se pensent porteurs n'osent pas aller se faire soigner de peur d'être mis à l'écart de la population par stigmatisation et par crainte des PL(3). A l'inverse, les signes cliniques ne sont pas pathognomoniques de la maladie et le personnel soignant n'est pas toujours bien sensibilisé aux THA.

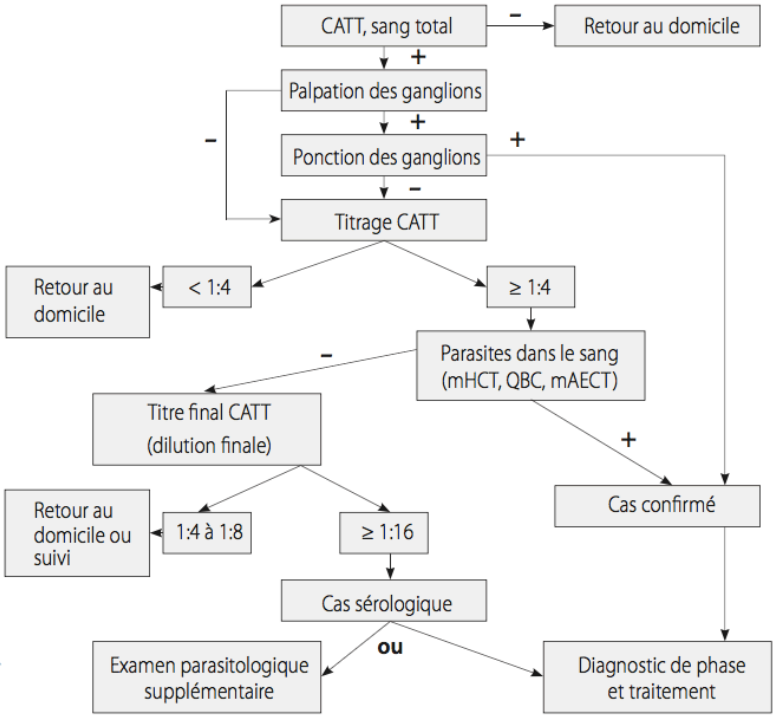
Les retards diagnostics sont un problème majeur avec une perte de chance importante lorsque le traitement est initié en phase tardive de la maladie.

I.C.5.c Algorithmes diagnostic de la THA à *T. b. gambiense*

I.C.5.c.i Évaluation des algorithmes

Différents algorithmes ont été utilisés sur le terrain et évalués (Figure 22). L'algorithme dépend énormément des moyens engagés et du foyer ciblé. Certains des programmes de lutte nationaux ne peuvent se fournir en CATT ou en personnel et logistique. Les aider financièrement permettrait qu'ils puissent appliquer des algorithmes plus sensibles(3).

Des distinctions d'algorithmes devraient aussi être appliquées selon leurs utilisations dans des dépistages de masse ou passifs car la prévalence de la maladie sur les deux populations n'est pas la même et les techniques utilisables non plus(90).

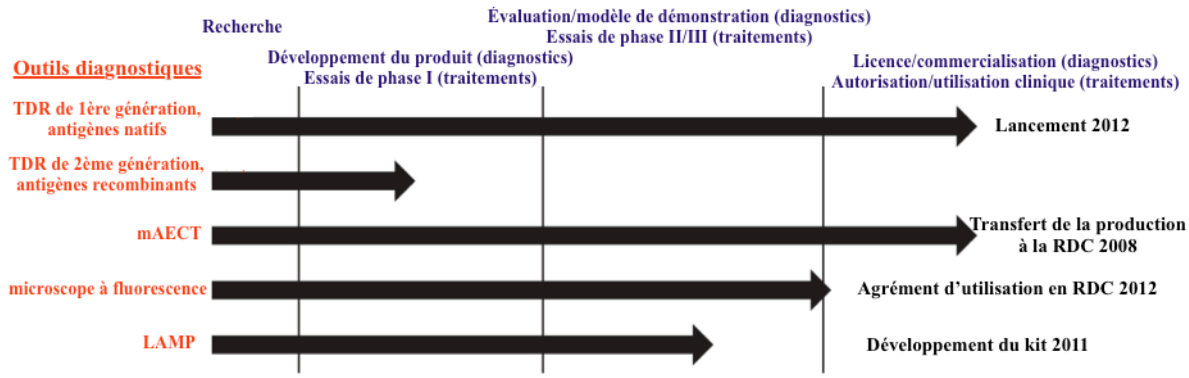


CATT : *card agglutination test for trypanosomiasis* ; mHCT : *microhaematocrit centrifugation technique* ; QBC : *quantitative buffy coat* ; mAECT : *mini-anion-exchange technique*

Figure 22 : exemple d'arbre diagnostique (d'après(3))

La répétition de la recherche parasitaire dans les algorithmes serait intéressante. La sensibilité des tests de détection parasitologique dépend des méthodes de concentration utilisées et aussi de la parasitémie du patient. Or la parasitémie évolue par vague et une répétition du test augmenterait la chance de prélever lors d'un pic parasitaire(90).

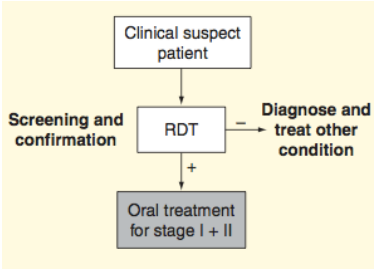
De part la diminution constante de la prévalence, des tests beaucoup plus spécifiques sont nécessaires et pourraient, à terme, remplacer les algorithmes diagnostiques compliqués. Des techniques sont en cours d'évaluation. Les tests sont sanguins comme les TDR deuxième génération, les LAMP, les FFLB sont à l'étude ou sur le LCR comme les mAECT (Figure 23) (4).



RDT : technique de diagnostic rapide ; mAECT : centrifugation en tube à micro-hématocrite ; LAMP : amplification à médiation par boucle ; RDC : République démocratique du Congo

Figure 23 : schéma de l'état actuel d'avancement et de production prévue de différents outils diagnostiques (d'après(4))

Il est possible d'imaginer que lorsque le même traitement oral existera pour les phases I et II le diagnostic de phase ne sera plus nécessaire et un simple diagnostic positif par un test sensible et spécifique suffira comme par exemple des TDR de deuxième génération (Figure 24) (160).



RDT : test de diagnostique rapide

Figure 24 : exemple d'arbre diagnostic envisageable dans l'avenir (d'après(160))

I.C.5.c.ii Cas des patients séropositifs sans confirmation parasitologique

Un cas est à mettre à part et concerne les patients avec une sérologie positive sans confirmation parasitologique. Ce peut être une personne ayant une infection vraie ou un porteur asymptomatique. Le porteur asymptomatique peut garder une parasitémie faible pendant longtemps et jouer un rôle dans la dissémination de la maladie en tant que réservoir. Plusieurs stratégies sont possibles : suivre le patient et attendre la confirmation parasitologique en risquant de le perdre de vue, traiter directement avec le risque de toxicité chez un patient asymptomatique ou traiter une partie seulement des patients séropositifs.

Selon une étude menée en 2011, un CATT positif pour des taux supérieurs ou égaux à 8, voire 16, est très spécifique d'un diagnostic de THA positif, indépendamment de la recherche parasitaire, lorsqu'on l'applique sur des populations à forte prévalence comme dans les régions endémiques ou lors des dépistages passifs. Cette stratégie serait à évaluer de manière plus approfondie même s'il a été montré

que les algorithmes sans outil de détection parasitologique sont moins spécifiques et mènent à un excès de traitement(90).

Lorsque cela est possible, la confirmation sérologique par le test sérologique, très spécifique, d'immuno-trypanolyse est souhaible(3).

I.D Traitement des THA

A l'heure actuelle, aucun vaccin n'est disponible ni en cours de développement, et seule l'utilisation de médicaments est disponible pour prendre en charge les humains infectés par les agents des THA(161).

I.D.1 Médicaments

Au début du XX^{ième} siècle, des molécules pour le traitement des THA, auparavant toujours mortelles, ont vu le jour et ont permis de grandes campagnes de lutte. Malgré l'avancée majeure que ces nouveaux composés représentaient, des inconvénients non moins importants y étaient liés. Les dérivés de l'arsenic sont très toxiques. La suramine et la pentamidine franchissent peu la BHE ce qui les rend inefficaces lors de la phase II de la maladie. Cependant, ces molécules sont encore d'actualité et restent recommandées dans certaines situations que nous reverrons dans la suite de ce chapitre.

Pendant les années 1960, les indépendances des états africains et l'instabilité politique et économique qui en ont découlé ont fait passer la prise en charge des THA au second plan des préoccupations socio-économiques des états. Alors que les foyers redémarraient, la recherche pharmaceutique « du nord » ne s'intéressait plus à cette maladie des zones rurales tropicales.

Cependant, en 1980, une molécule nouvelle, l'éflornithine a été homologuée par la *Food and drug administration* pour le traitement de la maladie du sommeil à *T. b. gambienne*, permettant ainsi une alternative face aux insuffisances des molécules précédentes(3). Mais le coût de la molécule et la difficulté d'administration ont longtemps limité son administration.

Par la suite, les avancées thérapeutiques de la maladie du sommeil ont été modestes avec l'introduction d'un schéma court de traitement par le mélarsoprol et un essai thérapeutique en 1998 comparant les molécules existantes et une association mélarsoprol-nifurtimox. Certaines molécules risquaient de ne plus être produites, tels le nifurtimox, la suramine voire le mélarsoprol, ou en plus petite quantité comme l'éflornithine(162)(163).

Grâce à la création d'un réseau pour « la surveillance du traitement contre les THA et la pharmaco-résistance » par l'OMS en 1999 et avec l'effort combiné de Médecin Sans Frontière (MSF), un partenariat a été signé avec plusieurs laboratoires pharmaceutiques en 2001, renouvelé en 2006 et 2011. Les Laboratoires Aventis Pharma, Bristol-Myers Squibb et Bayer, ont accepté de continuer la production et la distribution du traitement jusqu'en 2017 et ont également accepté de financer les organismes en charge

de la recherche et du contrôle de la maladie(164).

Il appartient à différents organismes de veiller à la bonne répartition des moyens nécessaires (logistique, financier et matériel) y comprit les moyens thérapeutiques. Parmi ces organismes, on trouve MSF ou les Programmes Nationaux de Lutte contre les THA (PNLTHA) de chaque État, ces derniers disposant de moins de moyens financiers que le premier. Les PNLTHA sont en charge de l'envoi d'équipes médicales au niveau des différents foyers de l'épidémie afin de former les équipes soignantes, en place localement, aux traitements et à leurs effets secondaires.

Ces efforts ont permis le développement de nouvelles molécules, ainsi que l'apparition de plusieurs combinaisons de molécules et de nouveaux schémas thérapeutiques avec des molécules usuelles moins nocives tout en conservant la même efficacité.

I.D.1.a Molécules usuelles

I.D.1.a.i Suramine (Germanin®)

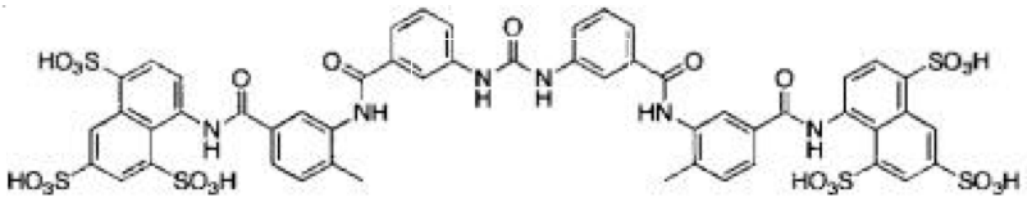


Figure 25 : structure de la suramine (d'après(165))

La suramine (Figure 25 et Tableau VII), dérivé du colorant trypan violet dont le nom est issu de son activité trypanocide, est une naphtylamine sulfatée de haut poids moléculaire. La molécule est actuellement fournie à l'OMS par le Laboratoire Bayer(166).

La suramine inhibe la glycolyse du parasite en agissant sur de nombreux enzymes impliqués lors du processus. On sait que le trypanosome, sous forme circulant dans le sang des patients, n'utilise que le glucose comme seule source d'énergie. La glycolyse est donc indispensable à sa survie(71)(69). La molécule entre dans le parasite par endocytose, ce qui permettrait d'expliquer l'activité trypanocide sélective(161).

La suramine élimine lentement, en 12 à 36 heures, *Trypanosoma* de l'organisme des hôtes infectés(167). La synthèse des enzymes serait inhibée dans le cytoplasme du trypanosome, expliquant la lenteur d'action de la molécule. À ce jour ce mode d'action est le seul à avoir été identifié pour cette molécule.

La suramine n'a pas d'efficacité sur les phases II des THA. Il est actif sur les deux sous-espèces du parasite mais ses effets secondaires, dangereux, lui font préférer le plus souvent d'autres molécules.

Tout comme pour la pentamidine, le regain d'intérêt pour la suramine a permis de mieux connaître sa pharmacocinétique. Après son administration en IV lente, les concentrations plasmatiques obtenues

sont variables mais demeurent supérieures à 100 µg/mL pendant plusieurs semaines. Il se lie à 99,7% aux protéines plasmatiques. Son élimination est principalement rénale avec une demi-vie très longue de plusieurs semaines voire plusieurs mois(168). Le médicament ne passe que très peu la BHE(3).

Les principaux effets secondaires de la molécule sont peu spécifiques (Tableau VIII). Les deux effets secondaires les plus fréquents sont la fièvre et la néphrotoxicité habituellement réversible. On rapporte des réactions anaphylactiques sévères à l'injection du produit, des éruptions cutanéo-muqueuses, des nausées et des vomissements, des polyneuropathies et une toxicité hématologique(71).

I.D.1.a.ii Pentamidine (Pentacarinat®)

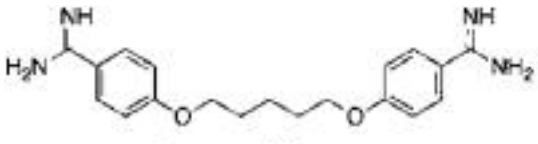


Figure 26 : structure de la pentamidine (d'après(166))

Ce dérivé organique de synthèse, diamine aromatique, n'est disponible que sous la forme de pentamidine iséthionate (Figure 26 et Tableau VII). Il existe des flacons de 200 mg conçus uniquement pour l'OMS et distribués gratuitement dans les pays de zone d'endémie.

Son mode d'action n'est pas totalement connu. Plusieurs mécanismes semblent intriqués : la molécule inhibe la synthèse de l'ADN par blocage de la thymidine-synthétase, elle modifie le kinétoplaste, elle se fixe sur l'ARN de transfert et interfère avec la synthèse des polyamines par blocage réversible de la S-adénosyl-L-méthionine décarboxylase(3).

La pentamidine n'est pas active sur les phases II de la maladie du sommeil. Mais elle est trypanocide sur les deux sous-espèces de trypanosome.

La pharmacocinétique du produit est de mieux en mieux connue. Sa demi-vie est très longue, plusieurs semaines. Son pic de concentration se produit une heure après une injection IM (intramusculaire) et lors de l'injection IV (intraveineuse), lente sur deux heures, on remarque une phase de distribution rapide de dix minutes suivie d'une phase de distribution plus lente(169)(170). Les concentrations plasmatiques de la pentamidine varient notablement d'un sujet à un autre mettant en évidence des différences interindividuelles de métabolisme de la molécule(169)(170). Le médicament se concentre fortement dans les tissus, particulièrement dans les reins et le foie(171). Le produit n'atteint pas des concentrations suffisantes pour avoir un effet trypanocide dans le LCR des patients (0,5% à 0,8% des concentrations plasmatiques) mais y reste détectable jusqu'à 30 jours après l'administration(169). La pentamidine se lie à 70% aux protéines plasmatiques et n'est pas éliminé par le rein mais majoritairement par métabolisme hépatique. Au moins sept métabolites ont été trouvés(71)(172).

Cette molécule est mieux tolérée que d'autres anti-trypanocides, cependant elle peut entrainer des

hypoglycémies sévères (Tableau VIII). On observe également aux points d'injections, qui sont douloureuses, des gangrènes et des abcès stériles avec atteintes du nerf sciatique. La toxicité rénale réversible est l'effet secondaire le plus décrit. Des hypotensions après l'administration sont retrouvées dans 10% des cas, et peut atteindre 75% des patients après injection IV. Des syncopes, des éruptions cutanées, des toxicités cardiaques à type de tachycardies ou d'arythmies et de rares atteintes pancréatiques tels des hypoglycémies voire des diabètes sont possibles. Des atteintes hépatiques et des toxicités hématologiques sont aussi retrouvées(69).

I.D.1.a.iii Mélarsoprol (Arsobal®)

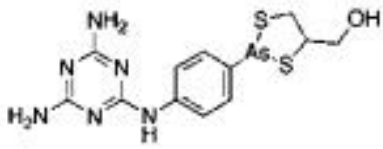


Figure 27 : structure du mélarsorpol (d'après(166))

Le mélarsoprol (Figure 27 et Tableau VII) est un dérivé de l'arsenic sous forme trivalente. L'adjonction d'un chélateur de métaux lourd le BAL (*British Anti-Lewisite* ou dimercaptopropanol) a permis de diminuer sa toxicité.

Le mécanisme d'action du médicament n'est pas tout à fait connu. Il agirait dans le cycle d'oxydo-réduction du parasite en inhibant un co-facteur : le trypanothion. Il semblerait que le produit agisse aussi sur plusieurs autres enzymes contenant des dithiols, tels la glutathion réductase(173). La molécule semble inhiber la pyruvate kinase, la phosphofructokinase, le fructose-2,6-biphosphatase, lui conférant également une action dans la glycolyse de *Trypanosoma*(69).

Le mélarsoprol est actif sur les deux sous-types de *Trypanosoma* quel que soit le stade de la maladie. Cependant la grande toxicité de la molécule lui fait préférer dès que possible d'autres traitements.

La pharmacocinétique de ce médicament reste encore largement inconnue et subirait des variations interindividuelles importantes.

Sa demi-vie, qui dépend du mode de détermination utilisé, est de 35 heures avec la méthode biologique de quantification du mélarsoprol mise au point par Burri et Brun ou inférieure à une heure en HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) suggérant une transformation rapide de la molécule en métabolites actifs dont l'activité n'est pas observable avec la seconde méthode(174)(175). Le métabolite principal est le melarsen oxyde. Les concentrations plasmatiques, la fixation aux protéines plasmatiques et le passage de la BHE subissent, eux-aussi, des variations interindividuelles importantes. La concentration de la molécule dans le LCR reste généralement très basse avec des valeurs inférieures à 100 ng/mL(176).

Historiquement, dans les années 1950, en se basant sur une expérience de 50 ans d'utilisation, des schémas thérapeutiques ont été proposés. Le mode d'administration dit séquentiel consistait, dans tous les protocoles, en trois ou quatre injections espacées de sept à dix jours(69). À l'époque, la concentration relativement basse de médicament retrouvée dans les urines avait fait supposer une accumulation importante du produit dans le corps humain. Dans les années 1970, la découverte d'une élimination principalement hépatique de la molécule pouvait faire penser que ces schémas n'étaient pas optimums(177). Ce n'est que récemment, dans les années 1990, que Pépin et Milord ont proposés des protocoles thérapeutiques d'administration continue incluant des posologies plus basses et plus rapprochées de manière à obtenir les mêmes doses cumulées(178).

Le principal effet secondaire du médicament, qui concerne 5% à 10% des patients, est l'encéphalopathie arsenicale qui survient principalement lors des premières injections du produit mais aussi après la fin du traitement (Tableau VIII) (166). Le tableau clinique consiste en l'apparition brutale de convulsions ou de troubles de la conscience qui évoluent rapidement vers le coma. L'adjonction concomitante de thiamine avec le mélarsoprol permettrait d'en diminuer les effets secondaires tout en préservant son efficacité(166). Le taux de mortalité lié à l'encéphalopathie varie de 0,95% à 9,4%(71).

D'autres effets secondaires sont possibles (Tableau VIII). On décrit des céphalées, des tremblements, des réactions fébriles, des douleurs abdominales et thoraciques, des éruptions cutanées ainsi que des thrombophlébites périphériques après injection IV de la molécule. Des toxicités cardiaques, rénales, hépatiques et hématologiques sont également observées(71)(166).

I.D.1.a.iv Nifurtimox (Lampit®)

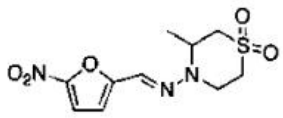


Figure 28 : structure du nifurtimox (d'après(166))

Le nifurtimox (Figure 28 et Tableau VII) est un dérivé du 5-nitrofurane. La molécule est fournie gratuitement à l'OMS par le Laboratoire Bayer en vue d'être distribuée dans les pays d'endémie et à MSF afin d'effectuer des essais thérapeutiques sur le traitement qui est considéré comme compassionnel et prescrit en cas d'échec au mélarsoprol(166).

Le nifurtimox permet la création de radicaux libres à partir du nitrofurane. Ces radicaux libres se fixent ensuite sur l'ADN et les protéines. Un autre mécanisme serait également mis en cause : la fixation inactivatrice du nifurtimox sur une enzyme du cycle d'oxydo-réduction : la trypanothion réductase.

Initialement, le médicament était indiqué dans le traitement de la maladie de Chagas. Le nifurtimox n'est pas indiqué en monothérapie dans le traitement des THA. Le taux de succès thérapeutique, qui a été évalué dans des cas d'infection à *T. b. gambiense*, est très variable allant de 50% à 80% faisant supposer

l'existence de souches résistantes à la molécule(166). Son intérêt principal réside dans son utilisation en combinaison, que ce soit avec le mélarsoprol ou l'éflornithine, surtout au vu de l'augmentation des résistances au mélarsoprol(166).

Après la prise orale de 15 mg/kg, la concentration atteint un pic en deux à trois heures. La demi-vie est de trois heures avec une élimination essentiellement hépatique. La molécule diffuse bien dans l'organisme. Les concentrations plasmatiques, après prise du traitement, sont faibles. Cependant on retrouve la moitié de ces doses plasmatiques dans le LCR(166).

Le nifurtimox est souvent administré par voie orale à raison de 5 mg/kg, trois fois par jour, pendant deux à trois semaines(71).

Les effets secondaires observés s'intriquent étroitement avec les symptômes de la maladie qui est déjà très avancée lors des rechutes (Tableau VIII). On décrit des atteintes nerveuses à type de convulsions, psychoses, neuropathies périphériques. Les autres symptômes rapportés sont des atteintes digestives à type d'anorexie ainsi que des nausées et des vomissements(71).

I.D.1.a.v Éflornithine (Ornidyl®)

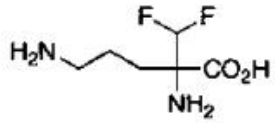


Figure 29 : structure de l'éflornithine (d'après(166))

L'éflornithine ou DL-α- difluoro-méthyl-ornithine (DFMO) (Figure 30 et Tableau VII) a initialement été développé en tant qu'anti-cancéreux. La molécule est fournie gratuitement par le laboratoire Sanofi-Aventis pour sa distribution dans les pays d'endémie.

Il agit par inhibition irréversible de l'ornithine décarboxylase du trypanosome. Cet enzyme est indispensable à la synthèse des polyamines. En l'inhibant, l'éflornithine arrête la différenciation et la division cellulaire du parasite, le rendant ainsi plus sensible au système immunitaire de l'hôte qui prend la relève. Il est trypanostatique et les patients ne doivent donc pas être immunodéprimés pour que la molécule soit active. La relative résistance de *T. b. rhodesiense* à la DFMO est liée à une demi-vie de l'enzyme cible plus rapide dans cette sous-espèce(69).

Le pic de concentration de la molécule est atteint dans les six heures après la prise orale, la demi-vie est de trois heures après l'administration de 10 mg/kg en IV. La courte demi-vie nécessite plusieurs prises journalières mais l'action prolongée du traitement contre balancerait ce phénomène et permettrait l'administration biquotidienne du produit(179) .

L'élimination de l'éflornithine est rénale avec 80% de la dose se retrouvant, sous forme inchangée à 80%, dans les urines dans les 24 heures(180). La molécule est peu liée aux protéines plasmatiques.

Le médicament est disponible sous forme orale ou IV. Mais l'efficacité du traitement sur les phases II des THA dépend de la concentration de DFMO retrouvée dans le LCR, celle-ci ne doit pas être inférieure à 50 nmol/mL(181). Plusieurs études ont montré une diminution d'efficacité lors de traitements plus courts ou administrés par voie orale(69). Le protocole d'administration comprend donc des injections IV plusieurs fois par jours.

La prescription du traitement chez les enfants doit tenir compte de la moindre concentration de produit dosée dans le LCR(181).

Les effets secondaires sont fréquents, supérieurs à 10%, et essentiellement similaires à ceux des anti-cancéreux : toxicité hématologique, diarrhée, nausée, vomissement, fièvre, alopécie, anorexie, céphalée, douleur abdominale, convulsion (Tableau VIII) (71). Les infections liées aux soins de cathéter ne sont pas négligeables et nécessitent une asepsie stricte.

Tableau VII : molécules usuelles disponibles pour le traitement des THA

Molécules	DMM	Admini-Stration	Indication		Remarques
			Stade (cytorachie)	**Sous type parasitaire**	
Suramine	1922	IV lente	Stade I (<6 C/µL)	*T.b.rhodesiense* (*T.b.gambiense*)	- Risque de choc en cas d'infection à *Onchocerca volvulus*
Pentamidine	1937	IM IV lente	Stade I (<20 C/µL)	*T.b.gambiense*	- Echecs thérapeutiques signalés
Mélarsoprol	1949	IV	Stade II (Stade I)	*T.b.gambiense* *T.b.rhodesiense*	- Echecs thérapeutiques signalés
Nifurtimox	1960	Per os	Stade II	*T.b.gambiense*	- Pas d'AMM en monothérapie - Inactif sur *T.b.rhodesiense*
Éflornithine	1981	IV	Stade II	*T.b.gambiense*	- Administration difficile - Couteux - Inactif sur *T.b.rhodesiense*

DMM : date de mise sur le marché ; IM : intramusculaire ; IV : Intraveineux ; C/µL : cellules/µL ; AMM : autorisation de mise sur le marché.

Tableau VIII : effets secondaires des molécules usuelles disponibles

Molécules	Effets secondaires
Suramine	- Réactions fébriles - Néphrotoxicité réversible - Éruptions cutanéo-muqueuses - Nausées/vomissements - Polyneuropathies - Toxicité hématologique
Pentamidine	- Bien tolérée - Douleur, gangrène et abcès au point d'injection - Malaises lors de l'injection - Induction d'hypoglycémie
Mélarsoprol	- Très toxique : encéphalopathie arsenicale - Phlébites au point d'injection
Nifurtimox	- Atteintes du SNC : convulsions, réactions psychotiques, neuropathies périphériques - Atteintes digestives : anorexie, nausées, vomissements
Éflornithine	- Toxicité hématologique - Fièvres - Anorexie - Diarrhées/vomissements - Douleurs abdominales - Convulsions - Céphalées - Vertiges

SNC : système nerveux central

I.D.1.b Nouvelles molécules

Les difficultés liées au traitement, le peu de molécules disponibles, leurs coûts, la difficulté d'administration ou la toxicité, poussent à rechercher de nouvelles molécules thérapeutiques. Les voies métaboliques et les caractéristiques biochimiques propres à *T. brucei* sont en cours d'étude pour découvrir des cibles potentielles pour de nouveaux traitements (Tableau IX).

Tableau IX : cibles potentielles pour le développement de nouvelles molécules dans le traitement des THA (d'après(161))

Pathway	Enzymes	Validation	Status
Polyamine biosynthesis	ODC, AdoMetDC	Genetic and chemical	AdoMetDC – Lead optimization
Trypanothione biosynthesis	TryRed, TSHSyn	Genetic and chemical	Hit to Lead
Energy Metabolism/glycolytic enzymes	Hexokinase, Phosphoglucose isomerase, phosphofructokinase, fructose-1,6-bisphoshate aldolase; phosphoclycerate kinase; enolase	Genetic and chemical	PFK – Hit to Lead Aldolase – Hit identification
Purine and Pyrimidine metabolism	DHFR-TS, pteridine reductase, cytidine triphosphate synthetase	Genetic and chemical	DHFR-TS – Hit to Lead
DNA modification	DNA topoisomerases	Genetic and chemical	Topo – Hit identification
Fatty acid biosynthesis/utilization	Elongases, N-myristoyltransferase	Genetic and chemical	NMT – Hit to Lead
Sphingolipid biosynthesis	Sphingolipid synthase	Genetic	
Protein modification	Prenylation	Genetic and chemical	PFT – Lead optimization
Protein modification	Kinases	Genetic and chemical	GSK3 – Hit to Lead
Protein modification	Proteases (TbCatB)	Genetic and chemical	Hit identification and validation
tubulin	Tubulin assembly	Genetic and chemical	Hit identification

I.D.1.b.i Dérivés de molécules existantes

I.D.1.b.i.1) Complexes moléculaires mélarsoprol-cyclodextrine :

La cyclodextrine est un composé utilisé en association avec de nombreux médicaments pour diminuer la toxicité et augmenter la solubilité des molécules déjà existantes. Des complexes moléculaires associant du mélarsoprol et de la cyclodextrine ont été donnés oralement à des souris trypanosomées. Les combinaisons testées ont montré une efficacité sans effets secondaires notables. Ces résultats sont à confronter à des études ultérieures(182).

I.D.1.b.i.2) Prodrogues de la pentamidine :

Plusieurs prodrogues de la pentamidine sont en cours d'évaluation. Le but étant de tester leur solubilité et leur passage de la BHE. Les résultats sont encourageants et prometteurs(183).

I.D.1.b.ii Autres composés

I.D.1.b.ii.1) Dérivés nitroimidazolés :

La redécouverte de ces composés amène à la mise en place d'essais cliniques par le DNDi (Drugs for Neglected Diseases initiative)(184) fondé en 2003.

I.D.1.b.ii.1)a) Fexonidazole

En plus du nifurtimox vu plus haut, le fexonidazole est en cours d'essai clinique phase II/III à la dose de 1,8 g/jour pendant quatre jours puis 1,2 g/jour pendant six jours. Le fexonidazole ou 5 nitro-imidazole est une molécule d'administration orale avec une activité trypanocide rapide. Elle agit principalement par le biais de ses deux métabolites, fexonidazole sulfoxide et fexonidazole sulfone. Ce produit serait efficace sur les deux phases des THA et sur les deux sous-espèces impliquées(185). Il existerait des résistances croisées avec le nifurtimox(186). C'est la nouvelle molécule la plus avancée actuellement dans la recherche.

I.D.1.b.ii.1)b) Autres dérivés nitro-imidazolés

Les autres dérivés nitro-imidazolés semblent très prometteurs, notamment le mégazol qui agit en bloquant le chaîne mitochondriale du parasite. Le principal défaut de ces molécules tient à leurs effets mutagènes. Ces effets nécessitent des études ultérieures(71).

I.D.1.b.ii.2) Cordycepine-pentostatine :

L'association de deux molécules, la cordycepine (3'deoxyadenosine) et la pentostatine (déoxycoformycine), a une activité trypanocide dose dépendante dont les effets secondaires sur le foie et le rein ne sont pas négligeables(187).

I.D.1.b.ii.3) Poisons de la topoisomérase IA :

Les trypanosomes possèdent de l'ADN mitochondrial au niveau du kinétoplaste dont les topoisomérases, essentielles à la survie de parasite, sont spécifiques aux trypanosomes et des cibles potentiels n'ayant pas d'équivalent dans les cellules des mammifères(188).

I.D.1.b.ii.4)I Inhibiteurs de la N-myristoyltransferase :

Le pyrazole sulfonamide est un composé inhibant l'enzyme myristoyl-CoA-protein *N*-myristoyltransférase (NMT) de *T. brucei* quel que soit le sous-type. Cette activité permet une lyse rapide du trypanosome due au nombre important de substrats de l'enzyme cible. La NMT humaine est aussi une cible de cet

inhibiteur mais semble moins indispensable à la survie des cellules(189). Des études pour améliorer la pénétration du SNC des patients par la molécule sont en cours(190).

I.D.1.b.ii.5) Diamidine :

La parafuramidine maléate (DB289) après des essais cliniques menés avec succès jusqu'à la phase III a montré des toxicités rénales et hépatiques suffisamment graves pour ne pas le recommander. Actuellement, d'autres composés de la même classe thérapeutiques sont en cours d'étude préclinique(191).

I.D.1.b.ii.6) Benzoxaborole :

Ce composé serait un traitement oral potentiel pour les phases II des THA. Le composé SCYX-7158, considéré comme le chef de file de cette classe thérapeutique, est entré en phase I des essais cliniques en 2012(192).

I.D.1.c Combinaisons

Dans les années 1990, suite à l'homologation de l'éflornithine pour le traitement des THA, des essais thérapeutiques de différentes combinaisons, comportant soit du mélarsoprol, de l'éflornithine ou du nifurtimox, ont vu le jour(193).

Ces essais montraient tous une augmentation d'efficacité des combinaisons par rapport aux monothérapies. Cependant, les combinaisons incluant du mélarsoprol causaient des effets secondaires inacceptables qui ont amené les responsables à abandonner, avant la fin de l'étude, l'essai thérapeutique mené en Ouganda(194).

Un autre essai, le *Nifurtimox éflornithine combination therapy* (NECT) semblait prometteur avec un taux de succès calculé à 94,1%, lorsque les résultats ont été analysés en intention de traiter, mais nécessitait confirmation à cause du peu de patients enrôlés.

Une étude menée en RDC et au Congo a comparé l'efficacité et la tolérance de l'éflornithine en monothérapie avec un protocole standard par rapport au NECT. L'efficacité des deux traitements était excellente avec des taux supérieurs à 94% de guérison dans les deux bras. La tolérance était également excellente et aucun décès lié aux traitements n'a été déclaré. Depuis, un essai thérapeutique multicentrique a été mis en place sous l'égide de la DNDi et de l'OMS. Le taux de mortalité dans le bras NECT était bas à 0,7% et le taux de guérison de 97,7% à 18 mois, confirmant ainsi les premiers résultats(195).

Les effets secondaires rencontrés sont nombreux mais de faible gravité. Les atteintes neurologiques sont les principaux symptômes avec une majorité de convulsions. Des atteintes psychiatriques sont possibles

comprenant des agitations. Des atteintes digestives sont retrouvées. En ce qui concerne les atteintes hématologiques, celles-ci sont moins fréquentes qu'avec l'éflornithine en monothérapie. Afin d'étayer ces données, un système de pharmacovigilance a été mis en place par l'OMS et différentes études ont été menées ou sont en cours. Par exemple, Schmid et son équipe a lancé en 2009-2010 une étude portant sur 629 patients(196). Il y a eu 39 effets secondaires graves chez 32 patients dont dix morts. Le taux de mortalité lié au traitement, dans un autre programme de pharmacovigilance mené par l'OMS en 2010, a été retrouvé à 0,5% sur 1735 patients(197).

Ce traitement est mieux toléré chez les enfants(198).

I.D.2 Indications et conduites pratiques du traitement

Le traitement de la maladie du sommeil est fonction de la chimiorésistance du parasite et de la capacité de la molécule à franchir la BHE. Ainsi différents schémas thérapeutiques sont indiqués :

Tableau X : recommandations pour le traitement des THA d'après l'OMS 2013 (d'après(3))

		Première intention	Deuxième intention
THA stade I	***T. b. gambiense***	Pentamidine iséthionate	
	T. b. rhodesiense	Suramine	Pentamidine iséthionate
THA stade II	***T. b. gambiense***	NECT	- Éflornithine si CI ou indisponibilité du nifurtimox - Mélarsoprol si rechute
	T. b. rhodesiense	Mélarsoprol	

CI : contre-indication

I.D.2.a Traitement de la THA à *T. b. gambiense*

I.D.2.a.i Traitement de la THA à *T. b. gambiense* à la phase I : *pentamidine*

Le risque de choc brutal après injection de la suramine lui fait préférer la pentamidine en cas de THA à *T. b. gambiense* stade I(71).

La pentamidine est recommandée en sept à dix injections de 4 mg/kg par voie IM tous les jours ou tous les deux jours. L'étude pharmacocinétique de l'élimination du médicament après des injections multiples montre que l'administration de trois doses en IM serait aussi efficace que sept à dix injections(170). Les injections IV sont moins fréquemment pratiquées du fait du risque de survenue d'une hypotension, ce qui nécessite donc une injection lente sur une ou deux heures. La prise de sucre et l'alitement sont conseillés lors de la prise du traitement.

Le traitement est indiqué pour les infections à *T. b. gambiense* stade I (Tableau X). La pentamidine est conseillée pour des cytorachies inférieures à 20 cellules/µL, mais son efficacité entre six et 20 cellules/µL de LCR reste à étayer (Tableau V)(71).

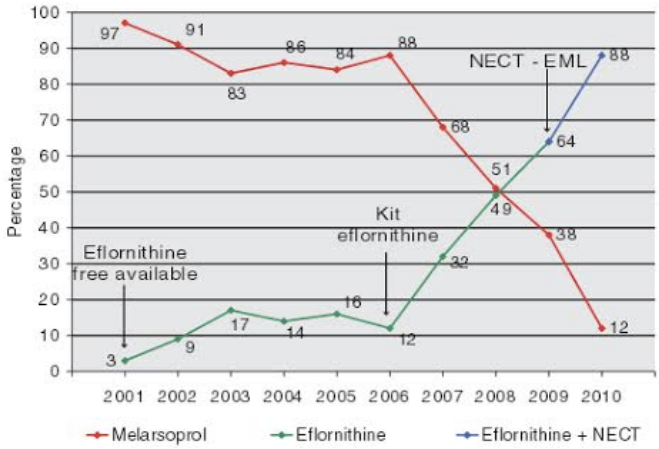
Le taux de guérison après traitement est de 93% à 98%(199). On a remarqué que la diminution de la concentration du produit dans le cytoplasme des parasites, par défaut de transport de la molécule qui comprend plusieurs transporteurs : le transporteur adénosyl triphosphate (ATP) dépendant via le récepteur à nucléoside P2, le transporteur faible affinité-haute capacité à la pentamidine et un récepteur de haute affinité-faible capacité à la pentamidine (HAPT), entraine une résistance au traitement. La possibilité pour la molécule d'entrer dans le parasite par plusieurs chemins rend les résistances difficiles et longues à se développer. De ce fait, le taux de résistance reste bas et stable(200).

I.D.2.a.ii Traitement de la THA à *T. b. gambiense* à la Phase II

I.D.2.a.ii.1) NECT

Comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre I.D.1.c « Combinaisons », le NECT a prouvé son efficacité et son innocuité par rapport au mélarsoprol et à l'éflornithine en monothérapie lors de différentes études. Ce n'est qu'en 2009 que l'OMS a ajouté cette combinaison à la liste des médicaments essentiels (*Essential Medicines List*)(201). En effet il offre des avantages considérables avec une administration plus facile que l'éflornithine, une diminution des hospitalisations, des doses médicamenteuses moins conséquentes, des ressources logistiques plus souples et une protection contre l'apparition de résistances à l'éflornithine.

Le protocole utilisé est de 200 mg/kg d'éflornithine en IV toutes les 12 heures pendant sept jours associé à 5 mg/kg de nifurtimox par voie orale toutes les huit heures pendant dix jours. L'OMS, fort du succès de leur kit conçu pour aider à l'utilisation de l'éflornithine, a crée un nouveau kit contenant le NECT conditionné sous une forme facilitant son utilisation. Ceci a permis une augmentation rapide du taux de NECT administré dans le traitement des THA (Figure 30).



NECT-EML : année d'inclusion du NECT dans l'*Essential Medicines List*

Figure 30 : pourcentage d'utilisation des médicaments trypanocides pour le stade II de la THA à *T. b. gambiense* (d'après(202))

Le taux de rechute est de 1,4% avec ce schéma thérapeutique(179).

Le NECT est considéré par l'OMS et MSF comme le traitement de première ligne des cas avancés de THA à *T. b. gambiense* (Tableau X). Mais la nécessité de sept jours d'injections IV représente un obstacle certain à son utilisation dans les centres de premier secours(198).

I.D.2.a.ii.2) Éflornithine

Le traitement est recommandé pour la THA à *T .b. gambiense* stade II quand le nifurtimox n'est pas disponible ou contre-indiqué (Tableau X) (3). Il a été démontré que l'éflornithine est moins toxique que le mélarsoprol avec un taux de mortalité plus bas(203)(204).

Depuis 2001, la molécule est disponible sur le terrain, mais en raison des difficultés d'administration, nécessitant 56 injections sur 14 jours, il est réservé aux cas réfractaires au mélarsoprol(71). Depuis la création par l'OMS d'un kit contenant tout le matériel nécessaire à l'injection de l'éflornithine ainsi que la mise en place de nombreux programmes de distribution et d'entrainement pratique, l'utilisation de la molécule est plus généralisée (Figure 31) (202).

Ainsi, le schéma thérapeutique recommandé est une injection IV de 100 mg/kg toutes les six heures pendant 14 jours, ce qui nécessite une hospitalisation au cours de cette période. Le taux de guérison avec ce protocole est de 97% avec un taux de rechute à deux ans de 5% à 10%(205)(3).

Malgré ces avancées, le protocole d'administration de l'éflornithine reste lourd et l'administration de la molécule en monothérapie pose problème quant à l'apparition éventuelle de résistances au produit.

I.D.2.a.ii.3) Mélarsoprol

Le mélarsoprol n'est plus indiqué que dans les stades avancés de THA à *T. b. gambiense* lors des rechutes après un traitement par NECT (Tableau X).

En se basant sur ce que l'on a dit à propos du mélarsoprol au chapitre I.D.1.a.iii, la molécule s'administrait, classiquement, en une injection IV de 3,6 mg/kg par série de trois ou quatre injections toutes les semaines. Ce n'est qu'en 2003, avec l'essai thérapeutique IMPAMEL II(206), que le protocole consistant en l'administration IV de 2,2 mg/kg par jour pendant dix jours, a été recommandé pour *T. b. gambiense* stade II. Le programme IMPAMEL II a permis de montrer une efficacité et une tolérance équivalente du schéma court par rapport au schéma historique tout en diminuant la durée d'hospitalisation, le coût ainsi que la dose totale de médicament administrée.

Le taux d'échec du traitement augmente lorsque celui-ci est utilisé en monothérapie(207)(208). Il est de 5% à 8% environ dans la plupart des foyers et certaines zones ont subi des augmentations alarmantes du taux de résistance. Il peut atteindre jusqu'à 30% des patients en Ouganda, 25% au Congo et en Angola et

16% à 21% au Soudan(207). Il existe des résistances croisées entre la pentamidine et le mélarsoprol lors la perte des transporteurs P2 et HAPT. Ceci permet de penser que ces deux transporteurs sont nécessaires pour développer une résistance de haut niveau à la pentamidine et au mélarsoprol(161).

I.D.2.b Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense*

I.D.2.b.i Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* à la phase I

I.D.2.b.i.1) Suramine

La molécule s'administre, immédiatement après la reconstitution. Après une dose test de 4-5 mg/kg le premier jour, les injections suivantes sont espacées de cinq à sept jours en IV lentes à la dose habituelle de 20 mg/kg. Pour le moment il n'existe pas de recommandation pour adapter la posologie à la clairance de la créatinine.

La suramine est indiquée dans de nombreuses pathologies : c'est un traitement anticancéreux, c'est également un traitement possible contre le VIH et un antifilaricide actif sur *Onchocerca volvulus*.

La suramine est indiquée dans le traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* stade I (Tableau X). Il est préférable, pour limiter le nombre de rechute, de prescrire le traitement uniquement en cas de cytorachie inférieure à 6 cellules/µL(71).

Les résistances décrites sont rares(166).

I.D.2.b.i.2) Pentamidine

Selon l'OMS, il serait intéressant d'évaluer son efficacité sur *T. b. rhodesiense* stade I au vu de son efficacité lors de traitement de cas de sommeilleux de pays non endémique infectés par cette sous-espèce et traités par la pentamidine avec succès(3).

I.D.2.b.ii Traitement de la THA à *T. b. rhodesiense* à la phase II : *mélarsoprol*

Le schéma thérapeutique du mélarsopol a été testé par l'OMS entre 2006 à 2009 en Tanzanie et en Ouganda sur les maladies du sommeil à *T. b. rhodesiense* stade II afin d'obtenir la recommandation d'utilisation pour cette sous-espèce (Tableau X). Le programme s'intitulait IMPAMEL III. C'est en 2009, lors du 30ème congrès scientifique international pour le contrôle et la recherche de la trypanosomose que ce protocole a été entériné(3).

Le taux de mortalité lors de cette étude a été de 8,4% avec 1% de rechute.

I.D.3 Suivi des patients et contrôle de l'efficacité du traitement

Comme nous venons de le voir, les traitements des THA ont des taux de rechutes bas et stables, à l'exception du mélarsoprol dans certains foyers de la maladie. Par exemple, tous stades confondus, dans une étude menée en RDC, le taux de rechute a été de 37% dont 59% après une monothérapie de 10 jours de mélarsoprol(209).

D'autres facteurs de risque de rechute ont été identifiés dans différentes études : un traitement antérieur de THA ou la présence, au diagnostic, d'une cytorachie supérieure à 100 cellules/µL, de trypanosomes dans le LCR et d'un titre d'IgM dans le LCR supérieur à 16(162)(209).

Les rechutes concernent principalement les patients en deuxième phase de THA et sont plus précoces en cas de THA à *T. b. rhodesiense*(3).

Sur le terrain, après le diagnostic et la prescription du traitement, les patients reviennent rarement pour un suivi. Seuls les malades redevenant symptomatiques consultent. Malgré ces limites, un suivi est conseillé jusqu'à 24 mois selon l'OMS avec des schémas séquentiels permettant de raccourcir le suivi des patients en fonction des résultats des examens(3). Ce suivi est actuellement basé sur l'examen clinique du patient et de son LCR avec les mêmes deux méthodes principalement utilisées pour le diagnostic de phase : la détection du parasite et la cytorachie. Lorsqu'il existe une suspicion clinique de rechute sans diagnostic différentiel possible, le clinicien peut être amené à traiter le patient sans que les résultats des examens n'interviennent(3).

Le suivi de la THA à *T. b. rhodesiense* est identique à celui des malades à *T. b. gambiense.*

Le suivi des patients sur l'évolution de leur taux d'Ac sanguin n'est pas recommandé. En effet, les taux peuvent rester détectable jusqu'à 5 ans après la guérison(3).

I.D.3.a Suivi à trois mois

La rechute à trois mois, que ce soit en phase I ou II de la maladie, est définie par la présence de trypanosomes dans le LCR. Le compte cellulaire dans le LCR n'est pas suffisamment discriminant et entraine des faux positifs.

Les autres patients sont amenés à revenir pour continuer le suivi.

I.D.3.b Suivi à six mois

L'absence de trypanosomes dans le LCR et une cytorachie inférieure ou égale à 5 cellules/µL classent le patient en guéri.

I.D.3.b.i Les patients en phase I de THA lors du diagnostic

Les patients initialement en phase I de THA rechutent rarement avec des parasites détectables dans leur LCR. L'évolution de la cytorachie est donc un meilleur marqueur et son ascension une preuve forte de rechute dans la maladie(3).

Une cytorachie supérieure ou égale à 20 cellules/µL ou la présence de trypanosomes définissent la rechute. Le seuil de 20 cellules a été choisi car il signe une atteinte neurologique. La présence de trypanosomes est rare mais décrite dans les rechutes des phases I de THA au diagnostic.

Les patients avec un compte cellulaire entre 6 et 19 cellules/µL sans parasite détecté dans le LCR sont considérés comme ayant une évolution incertaine et doivent revenir pour le prochain suivi ou être traités en fonction de la clinique.

I.D.3.b.ii Les patients en phase II de THA lors du diagnostic

La démarche du suivi est le même que pour les phases I avec un seuil de cytorachie à 50 cellules/µL.
Donc une cytorachie supérieure ou égale à 50 cellules/µL ou la présence de trypanosomes définissent la rechute.
Les patients avec un compte cellulaire entre 6 et 49 cellules/µL sans parasite détecté dans le LCR sont considérés comme ayant une évolution incertaine et doivent revenir pour le prochain suivi ou être traités en fonction de la clinique.

I.D.3.c Suivi tardif

I.D.3.c.i Les patients en phase I de THA lors du diagnostic

Les rechutes lors des THA en phase I peuvent être tardives. Le temps moyen entre le diagnostic et la rechute, si elle a lieu, est de 12 à 17,5 mois.

Le même raisonnement que lors du suivi à six mois s'applique. Le suivi est recommandé à 12 mois et tous les six mois jusqu'à 24 mois au moins.

I.D.3.c.ii Les patients en phase II de THA lors du diagnostic

À 12 mois seuls les patients avec des trypanosomes ou une cytorachie supérieure à 20 cellules/µL sont considérés en rechute. Les autres patients sont tous considérés comme guéris.

I.D.3.d Les marqueurs de suivi en cours d'évaluation

La nécessité de suivre les patients traités pendant une longue période est un inconvénient majeur

menant à de nombreux cas de perte de vue des patients. De nouveaux marqueurs plus précoces et mesurables sans être invasifs seraient intéressants.

I.D.3.d.i Concentration de l'Il-10 dans le LCR

Différentes études stipulent que la concentration d'Il-10, lors des phases tardives de la maladie, est élevée(210)(157). Cette concentration diminue rapidement après la mise en place d'un traitement et est le premier marqueur que l'on connaît à se normaliser avec la cytorachie(211).

I.D.3.d.ii Concentration d'IgM et d'Ac spécifiques anti-trypanosomes dans le LCR

Chez les patients en phase II de la maladie, la concentration d'IgM dans le LCR est souvent élevée. Après traitement, la concentration de ces IgM retourne à la normale dans les 6 à 12 mois. La guérison, dans ces cas là, pourrait être corrélée à la normalisation de ces valeurs.

Un test d'agglutination est disponible pour déterminer la valeur des IgM dans le LCR : LATEX/IgM. Test dont nous avons déjà parlé dans le chapitre I.C.4.c.i.

Les rechutes seraient détectables 12 mois après le traitement lorsque l'on combine la cytorachie et la valeur d'IgM intrathécal avec une spécificité de 97% et 100% à 18 mois. La valeur d'IgM intrathécal pourrait être utilisé seul à 18 mois pour repérer les rechutes. Mais son association avec la cytorachie est plus sensible(211).

I.D.3.d.iii Dosage de la néoptérine dans le LCR

Des marqueurs de la réponse immunitaire humorale intrathécale ont été évalués dans le LCR des patients pour le diagnostic de phase comme nous l'avons dit dans le chapitre I.C.4.c.ii « Autres marqueurs de la réponse immunitaire dans le LCR ». Ces marqueurs, en indiquant l'évolution de la réponse immunitaire, permettraient de détecter la reprise de la maladie dans le LCR. Parmi ces marqueurs, la néoptérine et le CXCL-13 semblent les plus prometteurs. En particulier la néoptérine qui, dès le sixième mois de suivi, a permis de raccourcir le suivi post traitement chez 97 patients sur 111. Cependant, comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre I.C.4.c.ii « Recherche d'une réponse immunitaire humorale intrathécale », l'augmentation de la concentration de néoptérine n'est pas spécifique mais montre une activation de la réponse immunitaire(212).

I.D.3.d.iv Dosage sanguin de cytokines

Nous avons déjà vu au chapitre I.C.4.e page 68, sur les marqueurs de phase dans le sérum, que des cytokines permettent de classer la maladie. En suivant la décroissance de leur valeur lors du suivi de patients traités, il serait certainement possible de marquer la guérison de ces patients.

Il a été montré que la concentration du TNF-α, lors des stades tardifs de la maladie, avant et après traitement est significativement diminuée, ce qui n'est pas le cas lorsque le patient est diagnostiqué lors de la phase I de la maladie(210).

I.D.3.d.v Dosage de l'Arginase dans le sang

Le métabolisme de la L-arginine joue un rôle essentiel dans la survie du parasite chez son hôte. Ce rôle est attesté chez différents pathogènes et n'est pas spécifique du trypanosome. Il existe aussi chez *Helicobacter pylori* et d'autres protozoaires flagellés comme *Leishmania*(213).

La L-arginine sert de substrat à deux enzymes : l'arginase et la *Nitric oxide synthase* (NOS). Grâce à ses deux isoformes, l'arginase hydrolyse la L-arginine en urée qui joue un rôle essentiel dans le cycle de l'urée hépatique des mammifères et donc de la détoxification de l'ammoniac, et en L-ornithine qui permet la synthèse des polyamines via l'ornithine decarboxylase (ODC). Le deuxième substrat, la NOS, permet la production du NO dans les macrophages et les granulocytes. De plus, la déplétion en L-arginine médiée par l'arginase entraine une suppression de la réponse immunitaire des lymphocytes T. Il a été montré que l'activation de l'isoforme ARG1 dans les macrophages des mammifères entraine une diminution de la production de NO qui joue un rôle essentiel dans la lutte contre les pathogènes comme le trypanosome. En effet, l'activation de l'ARGI entraine une diminution de la L-arginine substrat de la NOS(214).

Chez les trypanosomes, les polyamines sont essentielles dans la synthèse de l'ADN et du trypanothion. Ces deux éléments sont eux-mêmes essentiels au maintien d'une réponse au stress oxydatif et à la prolifération des parasites(215). Le trypanothion est spécifique des kinétoplastidés et remplace le glutathion présent chez l'Homme. Il joue un rôle essentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. Il est un composant de nombreuses enzymes chez le trypanosome et est indispensable à sa survie(173)(215).

En résumé, l'augmentation de l'arginase chez l'hôte infecté permettra la survie du parasite et diminuera l'efficacité des défenses immunitaires de l'hôte.

Une étude menée en RDC a mesuré la concentration de l'arginase et son activité dans le sérum de patients sommeilleux en phase I et en phase II.

Avant et après le traitement, la concentration d'arginase chez les patients est significativement plus élevée que dans le bras contrôle. L'activité de l'arginase, qui montre le rôle de la production de la L-ornithine dans la pathogénicité de l'arginase, est significativement plus élevée chez les patients en phase I que dans le bras contrôle et est augmentée chez les patients en phase II mais pas significativement.

Les mêmes mesures ont été effectuées chez les patients présents à six mois soit 14 personnes. Chez 12 de ces patients, les concentrations et l'activité de l'arginase, initialement élevés, étaient redevenues normales. Le contrôle parasitologique était négatif.

L’origine de l’arginase n’a pas encore été trouvée mais les granulocytes et les macrophages pourraient y jouer un rôle.

Ces résultats semblent prometteurs et permettraient un suivi de la maladie via un marqueur sérique. Une étude multicentrique à large cohorte serait nécessaire avec la mise au point d’un échéancier pour le suivi(216).

II Cas de Trypanosomoses Humaines Africaines diagnostiquées chez une mère et son enfant de 14 mois au CHRU de Tours

L'enfant Dan AMB… est né le 28 avril 2012 en France, à Chartres (Eure-et-Loire) d'une mère Congolaise (RDC). Il n'a jamais séjourné en Afrique.

Le 24 juin 2013, le laboratoire de bactériologie du CHRU de Tours reçoit une PL pour cet enfant, âgé alors de 14 mois et hospitalisé à l'hôpital pédiatrique Gatien de Clocheville de Tours pour exploration de troubles neurologiques apparus vers l'âge de 9 mois. Cette PL est la deuxième pratiquée au CHRU de Tours pour la recherche étiologique de la pathologie de Dan. Dans le LCR, des « éléments mobiles » sont objectivés au microscope (Figure 31) (D. Laullier). Le laboratoire de Parasitologie du CHRU est contacté et identifie sur l'état frais ces parasites comme étant des trypanosomes. Une coloration au MGG permet d'en détailler la morphologie (Figure 32). Le diagnostic de trypanosomose humaine africaine est alors posé chez cet enfant.

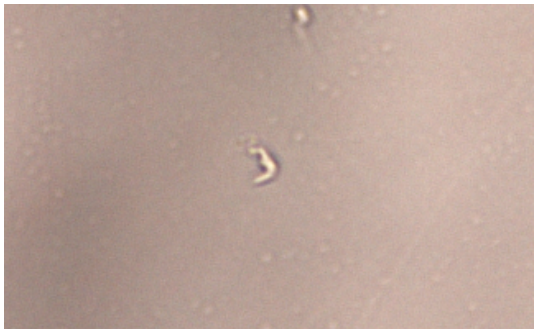


Figure 31 : forme trypomastigote de *Trypanosoma* sp observée dans le LCR de Dan (état frais, x 400, Service de Parasitologie de Tours)

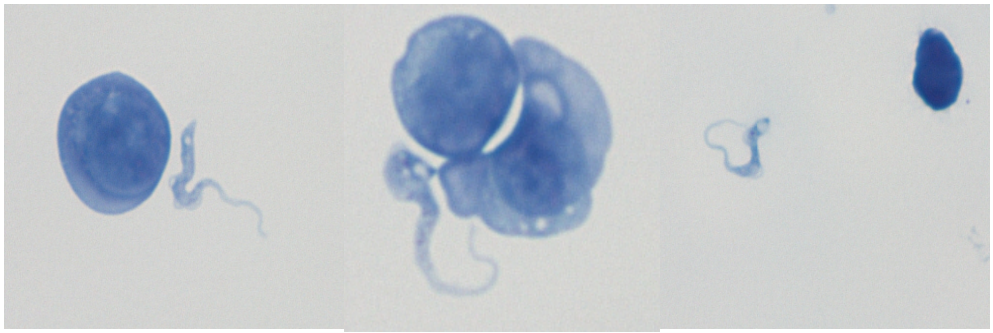


Figure 32 : forme trypomastigotev de *Trypanosoma* sp observée dans le LCR de Dan (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie de Tours)

Après consultation du système informatisé du CHRU (« dpp » pour « dossier patient partagé ») il apparaît que Dan a été admis à Tours le 21 mai 2013, transféré depuis Vierzon où il avait été hospitalisé quelques semaines plus tôt pour des anomalies de développement staturo-pondéral et psychomoteur.

Sur le dpp apparaît également l'information selon laquelle sa maman, Nadège, serait porteuse de « lésions de leucodystrophie diagnostiquées sur 2 IRM cérébrales faites en janvier (Bourges) et mars 2013 (St Anne, Paris) sur une hémiparésie gauche et un ralentissement psycho-moteur ». Nous relatons ci-dessous les éléments cliniques, biologiques et thérapeutiques de ces deux patients, tels qu'ils ont été colligés dans le dpp depuis mai 2013, par les différents intervenants dans ces dossiers.

II.A Tableaux cliniques de Dan et sa maman

II.A.1 Tableau clinique de Dan

Le petit Dan, 1 an, arrive au CHRU de Tours le 21 mai 2013 pour exploration de troubles neurologiques majeurs.

II.A.1.a Anamnèse

Le suivi de grossesse de sa mère a été tout à fait normal. Les échographies anténatales faites à 13 SA, 22 SA+6 jours et 32 SA+5 jours sont reportées normales (non vues). Il nait à 39 SA avec un score d'APGAR 10/10 et des biométries de naissance normales. Avec un poids de naissance au 25^{e} percentile (3 070 grammes), une taille à la naissance au 22^{e} percentile (48,5 cm) et un périmètre crânien à la naissance au 57^{e} percentile (35 cm) selon l'AUDIPOG (association des utilisateurs de dossiers informatisés en pédiatrie, obstétrique et gynécologie).

L'anamnèse de sa mère et de la famille d'accueil, qui le garde régulièrement depuis l'âge de six mois en raison des problèmes de santé de sa mère, ne permet pas de dater le début de ses troubles d'acquisition. À neuf mois, un retard staturo-pondéral est noté. La famille d'accueil décrit un retard global des acquisitions non régressif. Alors que la mère semble décrire un changement de comportement apparu il y a 1 ou 2 mois avant l'hospitalisation du 21 mai 2013 : son enfant ne sourit plus, ne rit plus et n'attrape plus les objets. Cependant, la mère est difficilement interrogeable, son état neurologique s'étant dégradé également récemment comme on le décrit au cours du chapitre II.A.2.a portant sur l'anamnèse de Nadège.

Début mai 2013, une hospitalisation de l'enfant à Vierzon est alors décidée (Tableau XI page 101).

L'examen clinique montre :

- Un poids à -1,38 déviation standard (DS) (7,490 kg), une taille à -2,25 DS (70 cm) et un périmètre crânien normal (47 cm).
- L'examen neurologique est très perturbé avec un retard de développement psychomoteur franc : « Enfant allongé, ne se relève pas seul, ne relève pas la tête, se contente de la tourner. Hypotonie globale, axiale et des membres. Ne tient pas sa tête, ne tient pas debout. Réflexes

ostéo-tendineux : ébauche des reflexes au membre supérieur, non retrouvés aux membres inférieurs. »

Les examens biologiques objectivent :

- Une anémie à 9,9 g/dL (valeurs normales N : 11,5-13 g/dL) sans anomalies des autres lignées ;
- Le bilan hépatique est à la limite des normales : l'aspartate aminotransférase (ASAT) à 34 UI/L (N : 15-60 UI/L) et l'alanine aminotransférase (ALAT) à 40 UI/L (N : 10-45 UI/L) ;
- Une hyperprotidémie à 87 g/l (N : 60-75 g/L) avec une hypoalbuninémie à 28 g/L (36-50 g/L) ;
- Une augmentation des IgM à 5,86 g/L (N : inférieur à 1,46 g/L) et IgG à 31,3 g/L (N : inférieur à 9,16 g/L) sur le bilan du 16/05/2013 ;

Une hépatosplénomégalie (HSM) modérée est vue à l'échographie abdominale (non vue).

Un premier bilan étiologique ne retrouve pas d'anomalies : bilan hormonologique normal (bilan thyroïdien normal), absence de maladie coeliaque (Ac anti gliadine et anti endomysium négatifs), recherche de toxiques négatifs.

L'aggravation de l'état clinique conduit les praticiens de l'hôpital de Vierzon à transférer l'enfant au CHRU de Tours où il arrive le 21 mai 2013.

II.A.1.b Tableau clinique à l'arrivée à Tours

L'examen clinique retrouve un aspect dénutri et un retard global des acquisitions. De plus, Dan présente une fièvre intermittente avec une température oscillant entre 35,8°c et 38,6°c, une HSM et des ADNP multiples (Tableau XI page 101).

Il a, en plus des anomalies neurologiques déjà observées à Vierzon, une absence de saisie des objets tendus et peu de mouvements spontanés. Un avis des neurologues stipule : « une grande hypotonie de l'axe, tonus périphérique des membres inférieurs un peu présent […], nystagmus intermittent, suivi oculaire fluctuant » et ils prescrivent une IRM cérébrale (Figure 33).

Le 23 mai 2013, un avis génétique est demandé et conseille la réalisation d'un caryotype.

II.A.1.c Explorations cliniques, biologiques et d'imagerie à Tours

Le 25 mai 2013, le bilan hépatique est normal avec des ASAT à 39 UI/L (15-60 UI/L) et des ALAT à 29 UI/L (10-45 UI/L)

Le 28 mai 2013, il existe anémie normocytaire à 9,4 g/dL (N entre 10,5 et 13,5 g/L) et le volume glomérulaire moyen (VGM) est à 72,8 fL (N : 70-86 fL) sur la numération formule sanguine (NFS) avec les caractéristiques d'un syndrome inflammatoire avec une hyperleucocytose modérée à 13,6 G/L (N : 5-13 G/L). Le bilan biochimique montre une hyperprotidémie à 78 g/L (N : 60 à 75 g/L) avec une

hypoalbuminémie à 28 g/L (N : 37 à 50 g/L). Une *C reactive protein* (CRP) à 8,5 mg/L (N : 0-6 mg/L) et une procalcitonine (PCT) normale (0,03 µg/L pour des normales entre 0,01 et 0,06 µg/L).

Le 3 juin 2013, la protidémie est à 77 g/L (N : 60-75 g/L). L'électrophorèse des protéines sanguines (EPPs) présente une hypoalbuninémie à 27 g/L (N : 36-50 g/L) et une hypergammaglobulinémie polyclonale à 29,4 g/L (N : 8 à 14 g/L). Le profil des Immunoglobulines du même jour montre des IgA à 1,03 g/L (N : 0,27-0,86 g/L), des IgG à 4 fois la normale, 27,70 g/L (N : 3,35-6,23 g/L) et des IgM à 6 fois la normale, 7,22 g/L (N : 0,48-1,36 g/L).

Le 6 juin 2013, la CRP est à 5,1 mg/L (N : 0-6 mg/L) et la PCT à 0,03 µg/L (N : 0,01-0,06 µg/L).

Le 12 juin 2013 l'anémie est à 9,8 g/dL (N : 10,5 et 13,5 g/L) avec une hyperleucocytose à 20,9 G/L (N : 5-13 G/L). Les IgA sont normales à 0,95 g/L (N : 0,30-1,10 g/L), les IgG à 3 fois la normale à 29,90 g/L (N : 3,90-8,40 g/L) et les IgM à 4 fois la normale à 7,38 g/L (N : 0,50-1,70 g/L).

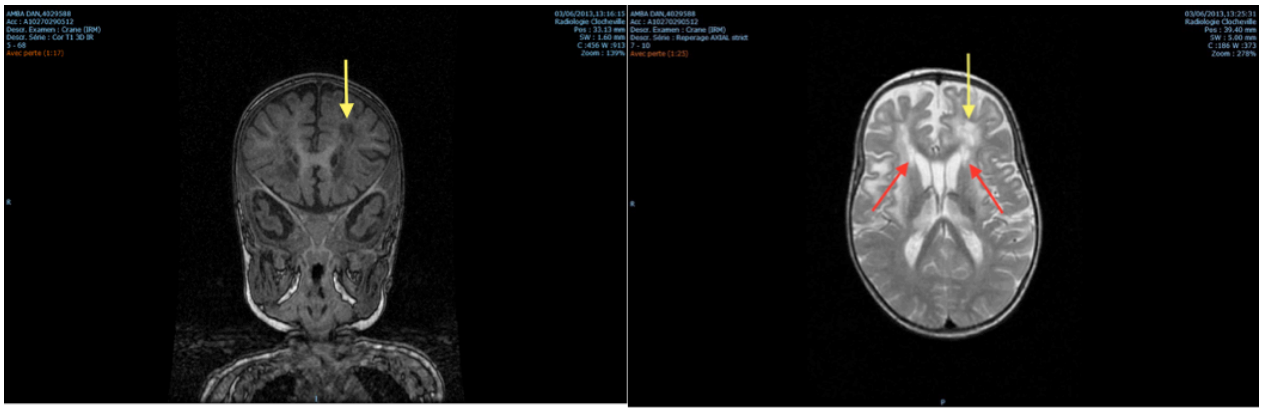
Le 26 juin 2013, les IgG sont dosées à 23,60 g/L (N : 3,9-8,4 g/L)

Le 28 juin 2013, la vitesse de sédimentation (VS) est augmentée à 62 mm à la première heure. La PCT est normale.

Les différentes valeurs du bilan biologique de Dan avant traitement sont résumées dans le Tableau XIII page 102.

Le 23 mai 2013, l'échographie cardiaque (non vue) visualise un épanchement péricardique, « probablement réactionnel à [une] virose ».

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) du 3 juin 2013 montre des anomalies en hypersignal en T2 et T2 FLAIR (*fluid-attenuated inversion recovery*) prédominants en fronto-temporal (Figure 33 : flèche jaune) avec des kystes juxta-ventriculaires frontaux (Figure 33 : flèches rouges). Des atteintes des noyaux gris centraux sont observées lors de cette IRM. Devant la leucodystrophie présente chez cet enfant alors qu'elle est déjà présente chez sa maman, des étiologies métaboliques et génétiques sont à nouveau évoquées.



La lésion en hyposignal T1 (flèche jaune IRM de gauche) correspond à la lésion en hypersignal T2 (IRM de droite flèche jaune). On note aussi la présence de kystes juxta-ventriculaires en T2 (flèches rouches IRM de droite).

Figure 33 : imagerie par résonnance magnétique (IRM) cérébrale axiale de Dan en T1 (à gauche) et T2 (à droite) le 3 juin 2013

Du 5 juin au 24 juin 2013, alors que l'état clinique reste identique, différentes explorations sont conduites et des étiologies sont évoquées.

La PL du 3 juin 2013 retrouve une hyperprotéinorachie à 3,91 g/L (N : 0,15-0,45 g/L) et des lactates dans le LCR augmentés à 4,05 mmol/L (N : 1,2-2,4 mmol/L) sans anomalie de la cytologie malgré de nombreux leucocytes (Table XV).

Devant les aspects évocateurs de l'IRM du 3 juin, une maladie d'Alexander est évoquée et une nouvelle recherche génétique est entreprise même s'il n'y a « pas de corrélation retrouvée entre la leucodystrophie et l'hypergammaglobulinémie ».

Une sérologie *ebstein-barr virus* (EBV) faiblement positive fait suspecter une primo infection à EBV et amène à considérer un nouveau contrôle sérologique.

Une nutrition entérale est entreprise le 18 juin 2013 pour tenter de palier la stagnation pondérale.

Devant la persistance d'un fébricule, un examen cytobactériologique des urines (ECBU) et une radiologie de thorax sont réalisés et une antibiothérapie par Augmentin® est entreprise à partir du 22 juin 2013.

Une nouvelle PL visant à réévaluer la cytologie et la biochimie du LCR un mois après l'arrivée est réalisée le 24 juin 2013. Elle montre une méningite lymphocytaire avec 125 globules blancs (GB)/µL dont 100% de lympho-plasmocytes avec une normoglycorachie une hyperprotéinorachie à 0,88 g/L (N : 0,15-0,45 g/L). La lactatorachie est toujours augmentée à 3,77 mmol/L (N : 1,2-2,4 mmol/L) (Table XV). En bactériologie, l'examen à visée cytologique du prélèvement révèle la présence de *Trypanosoma* sp mobiles.

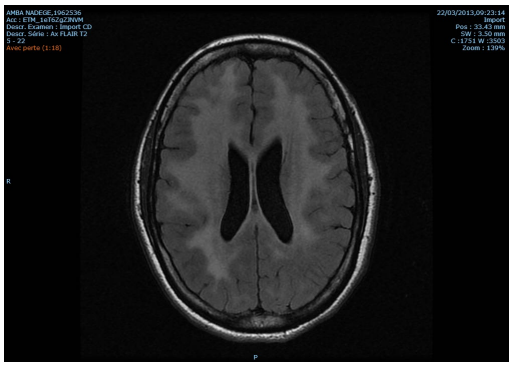
II.A.2 Tableau clinique de Nadège

II.A.2.a Anamnèse

Nadège AMB… est réfugiée politique, originaire de République démocratique du Congo où elle a vécu. Elle aurait séjourné en Angola. Elle est arrivée en France en mars 2010 (ou 2011 voire 2012 selon les rapports sociaux et/ou médicaux) et a démarré une grossesse en France, alors qu'elle était hébergée dans un foyer d'accueil pour réfugiés à Chartres (grossesse de déroulement normal : sérologies syphilis -, VIH -, rubéole +, toxoplasmose - ; échographies anténatales normales). L'accouchement se déroule apparemment sans problème à Chartres le 28 avril 2012, puis la mère et l'enfant se déplacent à Vierzon. Selon les entretiens psychiatriques ultérieurs, Nadège déclarera qu'elle aurait eu « des problèmes au foyer à Chartres avec une femme qu'elle accuse d'avoir voulu lui prendre son fils alors qu'elle le lui avait confié pendant son hospitalisation pour problèmes cardiaques ».

Le dossier médical complet de Nadège est récupéré sur le dpp. Il est noté différentes hospitalisations avant son arrivée à Tours en mai 2013 (Tableau XII) :

- En juillet 2012, elle est hospitalisée pour exploration de signes d'insuffisance cardiaque. Le diagnostic de cardiomyopathie dilatée du *post-partum* est posé après avoir évoqué une endocardite. Elle est vue régulièrement dans le cadre du suivi de cette cardiomyopathie. Lors de cette hospitalisation, l'état d'anxiété de Nadège fait prescrire de l'atarax.
- Du 19 au 29 janvier 2013, à Bourges, des épisodes d'hémiparésie gauche et de tétra parésie fluctuantes nécessitent la réalisation d'un électro-encéphalogramme (EEG) et de deux IRM (non vus). L'EEG montre un « foyer d'ondes lentes fronto temporales droit, sans activité paroxystique ». L'IRM retrouve des hyper signaux diffus T2 de la substance blanche. Le bilan biologique note une anémie normocytaire arégénérative avec une neutropénie modérée. Une PL réalisée à l'époque montre une méningite lymphocytaire avec protéinorachie (cytorachie : 111 GB/µL avec 83% de lymphocytes, proténorachie à 0,61 g/L, normoglycorachie) (Table XVI) et les troubles de la repolarisation sont retrouvés à l' Electrocardiogramme (ECG) (non vu) réalisé au cours de l'hospitalisation. Une échographie abdominale (non vue) met en évidence une HSM. Le diagnostic de « leuco-encéphalopathie diffuse » « à prédominance frontale, atteignant le [tronc cérébral] et les pédoncules cérébelleux » « et symétrique » est retenu. Le premier bilan étiologique infectieux, toxique, auto-immun, métabolique et génétique est négatif.
- En mars 2013, suite à des troubles fonctionnels digestifs, une échographie abdominale est réalisée qui retrouve une « hépatosplénomégalie modérée homogène ».
- Une IRM est réalisée, en mars 2013, à saint Anne qui confirme les lésions décrites précédemment avec des lésions en hypersignal diffus T2 de la substance blanche (Figure 34).



Lésions diffuses bilatérales de la substance blanche en hypersignal T2

Figure 34 : IRM cérébrale axiale T2 FLAIR de Nadège le 22 mars 2013

- Le 22 mai 2013, alors que l'état de Dan conduit à son transfert à l'hôpital pédiatrique de Tours, la patiente devait être hébergée à la maison des parents. Lors de l'arrivée à Tours, devant un comportement inadapté (agitation, cris) l'après-midi puis un état léthargique avec propos incohérents et confus dans la soirée, elle est adressée aux urgences psychiatriques du CHRU. Une « réaction anxieuse aiguë à un facteur de stress avec agitation » est retenu et

elle est gardée aux urgences psychiatriques qui la réévalueront le lendemain et évoqueront, entre autre, la possibilité « d'un ralentissement constitutif lié à une pathologie neurologique sous-jacente ». L'examen clinique ne retrouve pas d'ADNP, elle présente une hyperréflexie droite dont la localisation n'est pas précisée et un léger déficit moteur du bras droit. L'examen de la sensibilité de Nadège AMB… n'est pas réalisable. Son épisode aigu n'est pas clairement défini et l'imagerie, de même que les antécédents de la patiente, font évoquer une origine toxique aux troubles. Elle est adressée aux urgences adultes pour exploration d'une possible défense abdominale. L'ECG (non vu) fait aux urgences retrouve un « trouble de la repolarisation connu en antéro latéral ». Elle sort le 24 mai 2013 et retourne voir son fils à l'hôpital de Clocheville.

- Le 9 juin 2013, Nadège est hospitalisée en médecine à Vierzon suite à une crise convulsive. Il est noté des troubles de la vigilance et une aphasie. Le bilan biologique retrouve une anémie normochrome normocytaire arégénérative avec neutropénie modérée (hémoglobine à 9,5 g/dL, VGM 81, polynucléaires neutrophiles 1,3 G/L).
- Elle est transférée, le 13 juin 2013, dans le service de neurologie de l'hôpital Bretonneau de Tours pour suite de la prise en charge.

Un syndrome dépressif majeur et de l'épilepsie, sans que l'on connaisse la date de début des troubles, sont notés dans ses antécédents en plus de l'histoire de la maladie développée ci-dessus. Il est noté qu'elle « marchait […] avec deux cannes » avant son hospitalisation à Vierzon.

II.A.2.b Tableau clinique à l'arrivée à Tours

À l'arrivée, l'examen clinique retrouve des troubles de la vigilance avec une patiente « très ralentie, quasi mutique » et une errance du regard. Elle essaye de parler mais semble hypophone. La patiente est somnolente et apathique. Elle présente un déficit moteur léger du membre inférieur droit. Il existe une irritation pyramidale avec des réflexes ostéo-tendineux vifs avec diffusion de la zone réflexogène, une trépidation épileptoïde et un signe de Hoffman positif. L'examen de la sensibilité n'est pas possible du fait des problèmes de compréhension et de communication avec la patiente. Il existe des mouvements choréiques du visage et des membres inférieurs. Un doute sur une HSM modérée est noté (Tableau XII).

II.A.2.c Explorations cliniques, biologiques et d'imagerie à Tours

Une recherche étiologique « large effectuée devant toute leucodystrophie » est réalisée. Parmi les résultats des examens réalisés on peut noter :

Le 14 juin 2013, l'albuminémie est à la limite basse de la normale avec 38 g/L (N : 37-50 g/L). La CRP est normale (<1 mg/L). On constate une anémie à 9,5 g/dL (N : 11,5-16 g/dL) avec un VGM à la limite basse de la normale (81 fL) et des polynucléaires neutrophiles (PNN) à 1,51 G/L (N : 1,5-7,5 G/L).

Le 17 juin 2013, on constate une anémie normocytaire à 8,9 g/dL (N : 11,5-16 g/dL) et une neutropénie à 1,36 G/L (N : 1,5-7,5 G/L). Les IgG dosées dans le sang sont à 20,10 g/L (N : 7,50-15,30 g/L) soit 1,5 fois la normale. L'EPPs objective une hypoalbuminémie à 36,5 g/L (N : 37-50 g/L) et une hypergammaglobulinémie polyclonale à 27,9 g/L (N : 8 à 14 g/L). Le même jour, Nadège à des IgG anti-β2GP1 à 27 U/mL (N : < 8 U/mL), des IgM antiβ2GP1 supérieurs à 100 U/mL (N : < 8 U/mL), des IgG anti-cardiolipide à 19 GPL.U (N : < 10 GPL.U) et des IgM anti-cardiolipide supérieurs à 80 MPL.U (N : < 7 MPL.U).

Le profil des Immunoglobulines du 18 juin 2013 montre des IgA à 2,27 g/L (N : 0,67-2,13 g/L), des IgG à 2 fois la normale : 21,70 g/L (N : 6,75-12,53 g/L) et des IgM à 7 fois la normale : 13,50 g/L (N : 0,71-2,01 g/L) (Tableau X).

Le 21 juin 2013, l'anémie est à 9,3 g/L (N : 11,5-16 g/dL) et les PNN sont à 1,68 G/L (N : 1,5-7,5 G/L)

Le 27 juin 2013, la VS est à 96 mm à la première heure. Nadège a toujours une anémie à 9,2 g/dL (N : 11,5-16 g/dL) et une neutropénie à 1,36 G/L (N : 1,5-7,5 G/L).

Les différents résultats biologiques de Nadège avant traitement sont consignés dans le Table XIV page 103.

L'EEG du 14 juin 2013 semble montrer « une accélération du rythme de fond à la stimulation. Le tracé est surchargé de façon intermittente par des décharges d'anomalies lentes de la bande de fréquence delta à 1,5 HZ diffuses à prédominance bifronto-temporale, amples, polymorphes, semblant diminuer à l'ouverture des yeux. […] Pas d'anomalies paroxystiques, pas de crises enregistrées. » (Tableau XII page 101)

Le 18 juin 2013, l'échographie cardiaque trans-thoracique (ETT) révèle un « cœur semblant à la limite supérieure de la normale », la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) est diminué aux environ de 50%. Une micro insuffisance aortique obstructive et une « image vibratile de 5 mm sur la valve aortique » font évoquer une endocardite qui ne sera pas confirmée par l'échographie transoesophagienne (ETO) du 21 juin 2013 (Tableau XII).

L'échographie abdominale du 19 juin ne retrouve pas l'HSM.

La PL du 17 juin 2013 trouve une cytorachie à 280 GB/µL dont 90% de lympho-plasmocytes et 10% de cellules mononuclées avec une normoglycorachie, une lactatorachie légèrement augmentée à 2,65 mmol/L (N : 1,2-2,4 mmol/L) et une hyperprotéinorachie à 0,73 g/L (N : 0.15-0.45 g/L) (Table XVI).

Tableau XI : tableau des signes cliniques de Dan au cours de l'année 2013 avant et après son hospitalisation à Tours

Tableau clinique		Fils **Début des troubles difficiles à dater mais non régressifs**
Janvier 2013 : 9 mois		- Retard psychomoteur - Cassure pondérale
Mars 2013 : 11 mois		- Changement de comportement : • N'attrape pas les objets • Absence de rire et de sourire
Début Mai 2013 : 12 mois		- Premier bilan à Vierzon. Retard psychomoteur franc hypotonie axiale et périphérique et une HSM modérée (échographie abdominale)
Arrivé à Tours : 13 mois	Clinique	- Retard psychomoteur - Dénutrition - Hypotonie axiale et périphérique - Suivi du regard fluctuant, nystagmus intermittent - Fièvre intermittente - Adénopathies multiples - HSM
	Imagerie	- Échographie cardiaque (23 mai) : • Épanchement péricardique - IRM (3 juin) • Hypersignaux T2 diffus de la substance blanche
TRAITEMENT		

HSM : hépato-splénomégalie ; IRM : imagerie par résonnance magnétique

Tableau XII : tableau des signes cliniques de Nadège au cours de l'année 2013 avant et apprès son hospitalisation à Tours

Tableau clinique		Mère **2011 : Altération de l'état général**
Janvier 2012		- Cardiomyopathie dilatée du post-partum
19 au 29 janvier 2013 (Bourges)		- Symptômes neurologiques déficitaires fluctuants : ➢ Leuco-encéphalopathie diffuse - HSM (échographie abdominale) - Troubles de la repolarisation (ECG)
Mars 2013 (Saint Anne)		- Signes psychiatriques : • Anxiété. • Syndrome dépressif majeur - HSM modérée homogène (échographie abdominale) - Hyposignal diffus de la substance blanche (IRM)
22 mai 2013 (urgences psychiatriques et adultes Tours)		- Réaction anxieuse aiguë à un facteur de stress avec agitation • Agitation, cris • État léthargique • confusion - Déficit moteur léger du bras droit - Pas d'ADNP - Troubles de la repolarisation connus en antéro latéral (ECG)
9 juin 2013 (Vierzon)		- Crise convulsive avec troubles de la vigilance et aphasie
Arrivée à Tours le 13 juin	Clinique	- Ralentie, somnolente - Hypophone - Déficit moteur léger du membre inférieur droit - Irritation pyramidale - HSM (doute) - Mouvements choréiques du visage et des membres inférieurs
	Imagerie	- EEG (14 juin) : • décharges d'anomalies lentes, diffuses à prédominance fronto-temporale semblant diminuer à la fermeture des yeux - Échographie cardiaque trans-thoracique (18 juin) : • Suspicion d'endocardite (infirmée par l'échographie trans-oesophagienne 3 jours plus tard) - Échographie abdominale (19 juin) : • HSM
TRAITEMENT		

ECG : électro-cardiogramme ; HSM : hépato-splénomégalie ; IRM : imagerie par résonnance magnétique ; ADNP : adénopathie ; EEG : électro-encéphalogramme

Tableau XIII : résultats biologiques sanguins de Dan AMB… avant son traitement (en vert premier jour de traitement)

Biologie sérique de Dan	28/05/13	03/06/13	06/06/13	12/06/13	26/06/13	27/06/13	28/06/13
Hb (g/dL) (10,5-13,5)	9,4			9,8		9,8	9,7
VGM (fL) (70-86)	73,7					72,2	73,1
GB (G/L) (5-13)	13,6			20,9		20,9	20,2
L (G/L) (3-10,5)	7,18					14,84	13,80
Prot (g/L) (60-75)	78	77				84	79
Alb (g/L) (36-50)	28	27					32
Gamma (8-14)		29,4					
VS (mm) (<10)							62
CRP (mg/L) (<6)	8,5		5,1			7,7	
PCT (<0,06)	0,03		0,03				
IgA (g/L) (0,27-0,86)		1,03		0,95			
IgG (g/L) (3,35-6,23)		27,70		29,9	23,6		
IgM (G/L) (0,48-1,36)		7,22		7,39			

Hb : hémoglobine ; VGM : volume globulaire moyen ; GB : globules blancs ; L : lymphocytes ; prot : protéines ; alb : albuminémie ; gamma : gammaglobulinémie ; VS : vitesse de sédimentation ; CRP : C *reactive protein* ; PCT : procalcitonine ; IgA : immunoglobulines A ; IgG : immunoglobulines G ; IgM : immunoglobulines M.

Table XIV : résultats biologiques sanguins de Nadège AMB… avant son traitement

Biologie sérique de Nadège		14/06/13	17/06/13	18/06/13	21/06/13	27/06/13
Hb (g/dL) (11,5-16)		9,5	8,9		9,3	9,2
VGM (fL) (80-100)		81	81,2		82	81,8
GB (G/L) (4-10)		4,3	4,2		4,2	4
PNN (G/L) (1,5-7,5)		1,51	1,36		1,68	1,36
Prot (g/L) (65-80)			81			
Alb (g/L) (37-50)		38	36,5			
Gamma (8-14)		27,9				
VS (mm) (<10)						96
CRP (mg/L) (<6)		<1				
IgA (g/L) (0,67-2,13)				2,27		
IgG (g/L) (6,75-12,53)				21,70		
IgM (G/L) (0,71-2,01)				13,50		
Ac anti-β2GP1 (U/mL)	IgG (N : < 8)		27			
	IgM (N : < 8)		>100			
Ac anti-cardiolipide	IgG (N : < 10 GPL.U)		19			
	IgM (N : < 7 MPL.U)		>80			

Hb : hémoglobine ; VGM : volume glomérulaire moyen ; GB : globules blancs ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; prot : protidémie ; alb : albuminémie ; gamma : gammaglobulinémie ; VS : vitesse de sédimentation ; CRP : C *reactive protein* ; PCT : procalcitonine ; IgA : immunoglobulines A ; IgG : immunoglobulines G ; IgM : immunoglobulines M.

Table XV : PL itératives pré-diagnostiques de Dan avant traitement au cours de l'année 2013

LCR	Fils					
	GB (/µL)	Lymph (%)	Glycor (mmol/L) (2.75-4.4)	Prot (g/L) (0.15-0.45)	Lact (mmol/L) (1,2-2,4)	Index des IgG (0,10-0,70)
3 juin 2013	Hémorragique GB/GR normal		2,48	3,91	4,05	
24 juin 2013	125	100	2,87	0,88	3,77	0,85

Globules blancs ; lymph : lymphocytes ; glycor : glycorrachie ; prot : protéinorachie ; lact : lactatorachie ; index IgG : index des IgG [IgG/albumine]LCR/[IgG/albumine]sang

Table XVI : PL itératives pré-diagnostiques de Nadège avant traitement au cours de l'année 2013

LCR	Mère					
	GB (/µL)	Lymph (%)	Glycor (mmol/L) (2.75-4.4)	Prot (g/L) (0.15-0.45)	Lact (mmol/L) (1,2-2,4)	Index des IgG (0,10-0,70)
Janvier 2013	111	83	Normo	0,61		
17 juin 2013	280	90	2,52	0,73	2,65	2,94
25 juin 2013			3,29	0,85		

Globules blancs ; lymph : lymphocytes ; glycor : glycorrachie ; prot : protéinorachie ; lact : lactatorachie ; index IgG : index des IgG [IgG/albumine]LCR/[IgG/albumine]sang

II.B Diagnostic

À la suite de la découverte fortuite de *Trypanosoma* sp dans le LCR de l'enfant Dan et de la forte suspicion d'une pathologie similaire chez sa maman, différents examens biologiques ont été réalisés chez les deux patients afin de documenter les dossiers puis de suivre l'évolution suite à la mise en place de la thérapeutique.

La recherche de parasites dans le sang et le LCR a été effectuée au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHRU de Tours selon les techniques usuelles comme décrites dans la partie I.C.3.

Les recherches d'anticorps (Ac) ont été réalisées dans le Laboratoire de Parasitologie-Mycologie de la Salpêtrière (Paris).

II.B.1 Confirmation diagnostique

II.B.1.a Confirmation diagnostique chez Dan

II.B.1.a.i Recherche du parasite

II.B.1.a.i.1) Examen sanguin

Le 25 juin 2013, la recherche parasitologique est effectuée dans le sang de Nadège. L'état frais, examiné à l'objectif 10 et 40, a permis de visualiser des trypanosomes mobiles. Puis, quelques formes trypomastigote de *Trypanosoma* sp sont mises en évidence sur le frottis sanguin (Figure 35) et la goutte épaisse (Figure 37). De plus, des cellules mononuclées sont visibles sur le prélèvement (Figure 36).

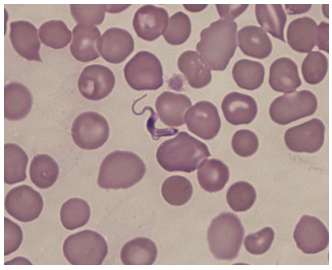


Figure 35 : forme trypomastigote de *Trypanosoma* sp visualisée sur le frottis sanguin de Dan le 25 juin 2014 (MGG, x1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)

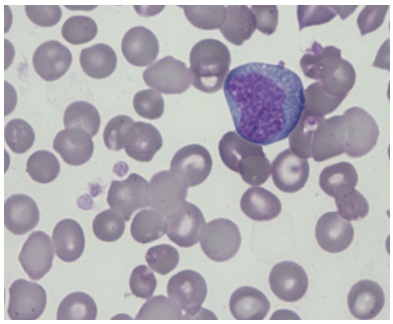


Figure 36 : cellule mononuclée activée présente sur le frottis sanguin de Dan le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)

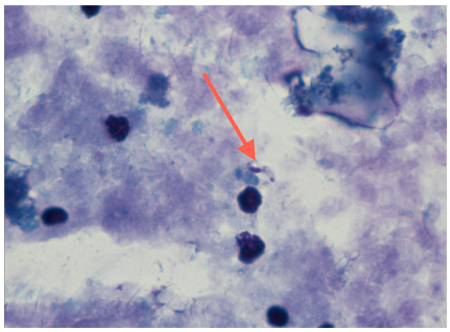


Figure 37 : forme trypomastigote de *Trypanosoma* sp visualiée sur la goutte épaisse de Dan le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)

II.B.1.a.i.2) Examen du LCR

Le LCR est examiné à l'état frais à l'objectif 10 et 40 et après coloration au MGG.

Les très rares formes trypomastigotes de tryanosomes observées le 24 juin (environ 2/µl de LCR) dans son LCR ne sont pas présentes dans la PL du 25 juin 2013 (Figure 31 et Figure 32). Des cellules mononuclées sont en revanche mises en évidence (Figure 32).

II.B.1.a.ii Détection des Anticorps

II.B.1.a.ii.1) Sérologie parasitaire

Deux techniques de détection des Ac ont été appliquées à l'échantillon sanguin de Dan. Une technique d'hémagglutination (HG), utilisant des structures antigéniques de *T. b. gambiense* présents à la surface de GR, avec un seuil de détection à 32 et une technique d'immunofluorescence (IF) utilisant des Ag de *T. b. gambiense* avec un seuil de détection à 400.

La sérologie sanguine de Dan est positive avec un taux de 32 à la méthode d'HG (positif si ≥ 32) mais négatif en IF avec un taux à 100 (positif si ≥ 400) (Tableau XVII).

Tableau XVII : sérologie parasitaire de Dan (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière-Assistance publique des hôpitaux de Paris)

Sanguin	Fils	
	IF (IgG) Positif ≥ 400	HG Positif ≥ 32
25 juin 2013	100	32

IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.B.1.a.ii.2) Détection des Anticorps parasitaires

L'interprétation des résultats de la recherche d'Ac dans le LCR des patients est positive dès qu'une réaction est observée, c'est à dire même sans dilution, soit un résultat positivif si le taux d'Ac est supérieur ou égal à 1.

Les deux mêmes techniques, que celles appliquées pour la sérologie parasitaire, sont appliquées sur le LCR de Dan et revient négative. En effet, l'hémagglutinine était positive avec le LCR pur soit à un seuil de 1. Une contamination par du sang pourrait expliquer ce résultat d'autant plus que l'IF est négative. Ce qui ne permet pas sur ce seul examen de conclure à une THA (Tableau XVIII).

Tableau XVIII : détection des anticorps parasitaires dans le LCR de Dan (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance publique des hôpitaux de Paris)

LCR	Fils	
Positif dès mise en évidence d'anticorps	IF (IgG) Positif ≥ 1	HG Positif ≥ 1
25 juin 2013	0	1

LCR : liquide céphalo-rachidien ; IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.B.1.b Confirmation diagnostique chez Nadège

Les techniques parasitaires appliquées sur les prélèvements de Nadège pour la recherche et la confirmation diagnostique sont les mêmes que pour Dan.

II.B.1.b.i Recherche parasitaire chez Nadège

II.B.1.b.i.1) Examen sanguin

La recherche de parasite dans le sang de Nadège le 25 juin 2015 est négative. L'examen sanguin n'a pas été renouvelé ensuite.

II.B.1.b.i.2) Examen du LCR

La recherche parasitaire dans le LCR de Nadège est négative le 25 juin 2013. Mais des cellules lymphocytaires et mononuclées sont visualisées sur le MGG. On retrouve en particulier des cellules de Mott (Figure 38 : flèche rouge).

Figure 38 : cellules lymphocytaires et une cellule de Mott (flèche rouge) présents dans le LCR de Nadège le 25 juin 2013 (MGG, x 1 000, Service de Parasitologie du CHRU de Tours)

II.B.1.b.ii Détection des Anticorps

II.B.1.b.ii.1) Sérologie parasitaire

La sérologie du 25 juin 2013 est en faveur d'une THA avec des taux d'Ac à l'IF à 1200 (positif si ≥ 400) et à l'HG à 2048 (positif si ≥ 32) (Tableau XIX).

Tableau XIX : sérologie parasitaire de Nadège (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance publique des hôpitaux de Paris)

Sanguin	Mère	
	IF (IgG) Positif ≥ 400	HG Positif ≥ 32
25 juin 2013	1200	2048

IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.B.1.b.ii.2) Détection des anticorps parasitaires dans le LCR

La sérologie du 25 juin 2013 est en faveur d'une THA avec des taux d'Ac à l'HG à 32 et à l'IF à 16 (Tableau XX).

Tableau XX : détection des anticorps parasitaires dans le LCR de Nadège (Laboratoire de la Pitié Salpêtrière – Assistance des hôpitaux publiques de Paris)

LCR	Mère	
Positif dès mise en évidence d'anticorps	IF (IgG)	HG
26 juin 2013	16	32

LCR : liquide céphalo-rachidien ; IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

Le diagnostic de THA est donc posé pour Dan et pour Nadège.

II.B.2 Diagnostic de phase

Selon l'OMS, la présence d'une cytorachie supérieure à 6 cellules/µL ou de trypanosomes dans le LCR suffit à confirmer la polarisation cérébrale(3).

II.B.2.a Diagnostic de phase de Dan

La présence de trypanosomes dans le LCR du 24 juin 2013 pose le diagnostic de THA à polarisation cérébrale.

II.B.2.b Diagnostic de phase de Nadège

Le 9 juin 2013, la cytorachie de Nadège est de 280 GB/µL confirmant également une THA en phase II (Table XVI page 104).

II.C Choix et suivi de la tolérance et de l'efficacité du traitement

II.C.1 Traitement

Face à ces 2 cas de trypanosomoses humaines africaines confirmés, un contact est rapidement pris auprès des Dr J. Jannin et P. Simmaro à l'OMS (Pr Chandenier). Ces deux responsables du programme de lutte contre les THA conseillent l'utilisation de DFMO et une demande d'utilisation est remplie auprès de l'OMS. Le produit est rapidement reçu de Genève.

Le traitement IV de Dan et Nadège a pu commencer le 28 juin 2013 et s'est terminé le 12 juillet 2013 avec le protocole thérapeutique recommandé d'une injection IV de 100 mg/kg toutes les six heures pendant 14 jours.

II.C.2 Suivi du traitement

II.C.2.a Tolérance de la DFMO

II.C.2.a.i Tolérance de la DFMO chez Dan

Aucun effet secondaire, ni clinique ni biologique, du traitement n'est retrouvé chez l'enfant lors de l'administration du produit.

II.C.2.a.ii Tolérance de la DFMO chez Nadège

Une neutropénie iatrogène est observée, chez Nadège, le 1er juillet 2013 sans que le traitement ne soit arrêté. La neutropénie initialement à 1,49 G/L (N : 1,5-7,5 G/L) le 29 juin 2013 chute à 0,85 G/L le 1er juillet. À la fin du traitement, le 11 juillet 2013 la neutropénie est à 0,70 G/L. (Évolution de la neutropénie : 2 juillet à 1,23 G/L, 5 juillet à 1,02 G/L, 9 juillet à 1,07 G/L)

A l'arrêt du traitement la neutropénie est spontanément résolutive avec 1,39 G/L le 17 juillet 2013 et se normalisera par la suite à 2,44 G/L le 11 février 2014 (Tableau XXV page 119).

Aucun autre effet secondaire n'est décrit chez Nadège.

II.C.2.b Évolution après traitement par DFMO

II.C.2.b.i Évolution de Dan après traitement par DFMO

II.C.2.b.i.1) Évolution clinique

Dan est transféré en soin de suite pédiatrique (SSP) le 26 juillet 2013 afin d'effectuer une évaluation des compétences cérébro-motrices et pour un accompagnement médical et rééducatif voire une mise en place d'un appareillage éventuel. L'évolution de Dan est marquée par une amélioration du contact avec l'apparition de sourires mais les mimiques restent faibles et il émet des cris monotones. La mobilité volontaire est débutante mais parasitée par des mouvements involontaires dystoniques. Cette amélioration ne permet pas de proposer des activités à Dan. Il reste très hypotonique avec une rigidité plastique et une hypertonie des membres. Il est nourrit par sonde nasogastrique avec une ascension régulière du poids malgré des vomissements fréquents avec suspicion de troubles de la déglutition. Il est pris en charge au niveau psychomoteur par une rééducatrice.

À trois mois et demi post traitement, le 14 octobre 2013, il reste hypotrophe, hypotonique, sans tenue de tête. Les mouvements volontaires sont très limités et ne lui permettent pas d'attraper des objets, ni de se mouvoir. Il suit les objets du regard mais présente un strabisme divergent et essaye d'émettre quelques sons. La motricité buccale reste faible et ne permet toujours pas une alimentation normale. À

l'examen clinque il garde une hépatomégalie sans splénomégalie et quelques ganglions axillaires. Sa mère passe le voir trois fois par semaine.

L'évolution à sept mois post-traitement, le 23 janvier 2014, est marquée par une bronchiolite à VRS. Sur le plan neurologique, quelques progrès sont observés. Les mouvements involontaires diminuent et il commence à attraper les objets avec grande difficulté. L'hypotonie axiale avec hypertonie des membres reste inchangée. Il garde sa nutrition par sonde. Il est verticalisé par un corset-siège. La pose d'une sonde de gastrostomie est décidée en lien avec une alimentation parentérale nécessaire au long court. Sa mère passe tous les jours.

À environ un an du traitement, de mai à juillet 2014, Dan a toujours besoin de son corset. La préhension des objets est possible sans qu'il puisse les garder dans la main. Les mouvements dystoniques ont diminués grâce à l'administration de Lévodopa®. Il communique bien et fait des vocalises. Il sort en permission avec sa maman tous les jours mais les gestes de la vie quotidienne sont pratiqués sous surveillance au SSP. Il commence à manger à la cuillère mais doit garder sa sonde de gastrostomie en raison des troubles nutritionnels importants.

En septembre 2014, le corset de dan est modifié.

Début novembre 2014 Dan à deux an et demi et présente un « développement homogène à quelques mois ».

À un an et demi du traitement, au bilan fait le 14 janvier 2015, Dan reste stable malgré quelques progrès concernant les mouvements volontaires et les réponses qui deviennent de plus en plus adaptées à son environnement. Il existe une « interdépendance mère-enfant ». Dan a maintenant 2 ans et 9 mois mais son développement moteur correspond à un enfant de 3 mois et demi. Grâce aux progrès de Nadège, la possibilité de permissions de nuits avec sa mère le week-end est envisagée.

À deux ans du traitement, le 28 juillet 2015, après des permissions de plus en plus longues avec sa maman, Dan rentre à domicile. Les soins seront administrés par des infirmiers à domicile et il sera suivi en libéral pour une prise en charge orthophonique et psychomotrice. Il sera revu régulièrement (prochain rendez-vous en septembre 2015). On peut en conclure que ses appareillages et les soins réguliers notamment par de la rééducation orthophonique et psychomoteur lui permettent de vivre avec sa maman.

II.C.2.b.i.2) Évolution des signes biologiques

II.C.2.b.i.2)a) Évolution du bilan sanguin

À la fin du traitement Dan n'a plus d'anémie avec, le 11 juillet 2013, une hémoglobine à 10,9 g/dL (N : 10,5-13,5 g/dL). Il garde une hyperleucocytose à 22,8 G/L (N : 5-13 G/L) qui fluctue pendant toute son hospitalisation en SSP et qui sera normale lors de sa dernière NFS le 25 janvier 2014 à 11,1 G/L (Tableau XXI page 113).

Le syndrome inflammatoire diminue. En post thérapeutique, la protidémie fluctue jusqu'à sa normalisation le 13 août 2013 avec une valeur à 68 g/L (N : 60-75 g/L). Son albuminémie se normalise le 2 juillet 2013 avec une valeur à 41 g/L (N : 36-50 g/L) (Figure 39). Son profil des immunoglobulines montre une nette diminution des valeurs avec des IgA à 0,46 g/L (N : 0,46 g/L), des IgG à 18,70 g/L (N : 3,35-6,23 g/L) et des IgM à 2,39 g/L (0,48-1,36 g/L) soit deux fois la normale lors du dernier contrôle le 14 juillet 2013 (Figure 40).

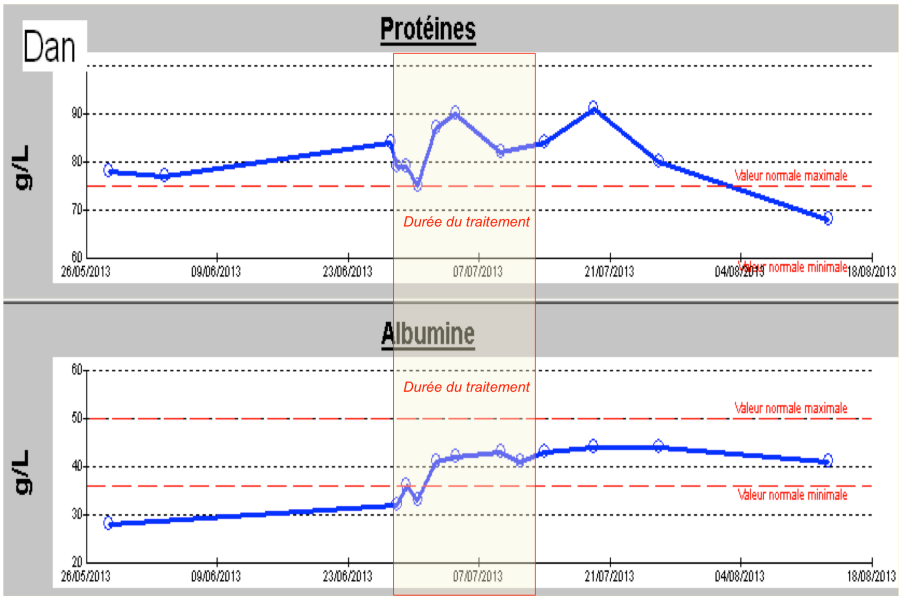


Figure 39 : évolution de la protidémie et de l'albuminémie dans le sang de Dan avant et après traitement

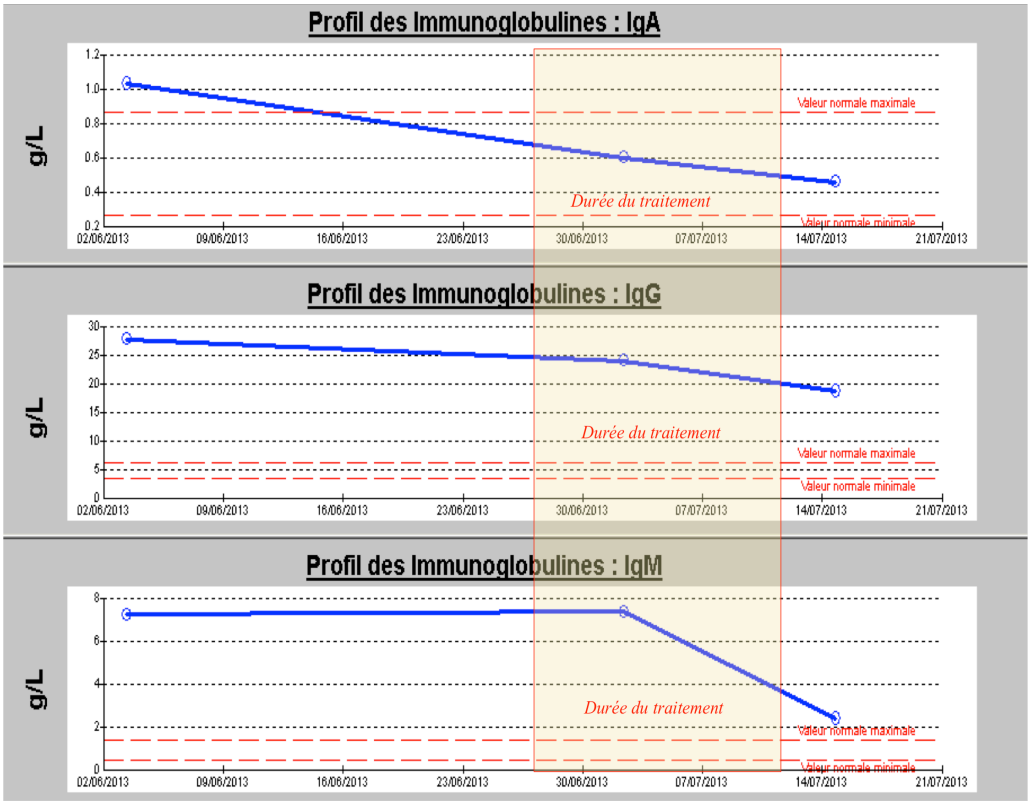


Figure 40 : évolution du profil des immunoglobulines dans le sang de Dan avant et après traitement

Tableau XXI : résultats biologiques sanguins de Dan avant et après son traitement (en vert : les valeurs pendant la durée du traitement)

Dan Sanguin	28/05/13	03/06/13	12/06/13	27/06/13	28/06/13	30/06/13	02/07/13	09/07/13	11/07/13	14/07/13	26/07/13	13/08/13
Hb (g/dL) (10,5-13,5)	9,4		9,8	9,8	9,7	9,3		11,2	10,9	11	11,3	11,6
VGM (fL) (70-86)	73,7			72,2	73,1	72,8		73,1	73	73,8	77,1	74,9
GB (G/L) (5-13)	13,6		20,9	20,9	20,2	11,6		25,3	22,8	30,9	24,6	20,2
L (G/L) (3-10,5)	7,18			14,84	13,80	8,24		20,67	15,96	20,70	15,99	15,76
Prot (g/L) (60-75)	78	77		84	79	75	87	82		84	80	68
Alb (g/L) (36-50)	28	27			32	33	41	43	41	43	44	41
Gamma (8-14)		29,4										
VS (mm) (<10)					62							
CRP (mg/L) (<6)	8,5			7,7						37,1		<1
PCT (<0,06)	0,03									0,05		0,04
IgA (g/L) (0,27-0,86)		1,03	0,95				0,60			0,46		
IgG (g/L) (3,35-6,23)		27,7	29,9				24			18,70		
IgM (G/L) (0,48-1,36)		7,22	7,39				7,34			2,39		

Hb : hémoglobine ; VGM : volume glomérulaire moyen ; GB : globules blancs ; L : lymphocytes ; prot : protidémie ; alb : albuminémie ; gamma : gammaglobulinémie ; VS : vitesse de sédimentation ; CRP : C *reactive protein* ; PCT : procalcitonine ; IgA : immunoglobulines A ; IgG : immunoglobulines G ; IgM : immunoglobulines M.

II.C.2.b.i.2)b) Contrôle parasitologique sanguin

Les différents contrôles parasitologiques effectués dans le sang de Dan reviennent tous négatifs le 15 juillet 2013, le 21 août 2013, le 17 octobre 2013 et le 31 janvier 2014.

II.C.2.b.i.2)c) Évolution de l'examen du LCR

II.C.2.b.i.2)c)i) *Contrôle cytologique et biochimique du LCR*

Après traitement, la protéinorachie de Dan revient à la normale le 15 juillet 2013 avec 0,31 g/L (N 0,15-0,45 g/L) de même que la lactatorachie qui revient à la normale à 1,83 mmol/L (N : 1,2-2,4 mmol/L). La cytorachie est comptée à 6 cellules/µL à la même date. Il y a donc une nette diminution de cette dernière (Tableau XXII).

Tableau XXII : profil évolutif de l'analyse cytologique et biochimique du LCR de Dan avant et après traitement

LCR	Fils			
	GB (/µL)	Glycorrachie (2.75-4.4 g/L)	Protéinorachie (0.15-0.45 g/L)	Lactates (1,2-2,4 mmol/L)
24 juin 2013	125	2,87	0,88	3,77
TRAITEMENT				
15 juillet 2013	6	3,32	0,31	1,83

LCR : liquide céphalo-rachidien ; GB : globules blancs

II.C.2.b.i.2)c)ii) *Contrôle parasitologique du LCR*

Le seul contrôle parasitologique du LCR de Dan, effectué le 15 juillet 2013, est négatif.

II.C.2.b.i.2)d) Évolution des taux d'anticorps

II.C.2.b.i.2)d)i) *Évolution de la sérologie parasitaire*

La sérologie parasitaire de Dan objective une disparition des IgG anti-*T. b. gambiense* en janvier 2014 soit six mois après le traitement (Tableau XXIII).

Tableau XXIII : sérologie parasitaire de Dan avant et après traitement

Sanguin	Fils	
	IF (IgG) Positif ≥ 400	HG Positif ≥ 32
25 juin 2013	100	32
TRAITEMENT		
15 juillet 2013	100	64
31 janvier 2014	0	

IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.C.2.b.i.2)d)ii) *Évolution de la détection des anticorps dans le LCR*

Aucune détection des Ac dans le LCR de Dan n'a été pratiquée après traitement.

II.C.2.b.i.2)e) Évolution du dosage des cytokines sanguines

Les valeurs des cytokines dosées dans le sang de Dan le 25 juin 2013 sont beaucoup plus élevées qu'après traitement le 21 août 2013 (Tableau XXIV).

Tableau XXIV : valeur des cytokines de Dan avant et après traitement

Sanguin	Fils	
	Pré-thérapeutique 25 juin 2013	Post-thérapeutique 21 août 2013
RsIl-2 (pg/mL)	> 20 000	3 340
Il-6 (pg/mL)	5	< 4
TNF-α (pg/mL)	202	42

RsIl-2 : récepteur soluble à l'Il-2 ; Il-6 : interleukine-6 ; TNF-α : *tumor necrosis factor-α*

II.C.2.b.i.2)f)Arginase

Sur les dosages de l'activité de l'arginase réalisés chez Dan on remarque une décroissance des concentrations dosées entre le 12 juin 2013 et le 31 janvier 2014 avec une valeur initialement dans la zone grise puis en dessous (Figure 41).

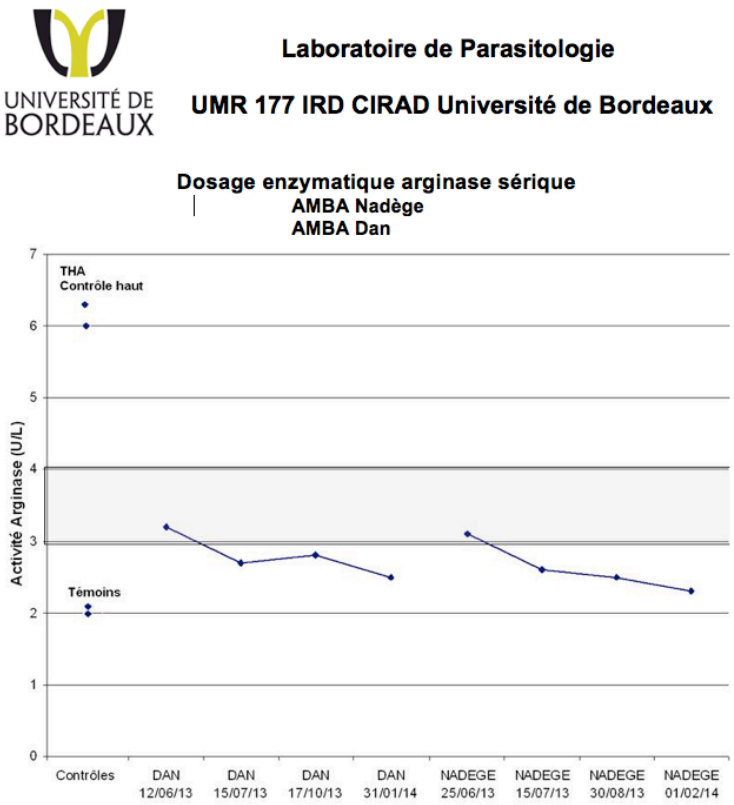
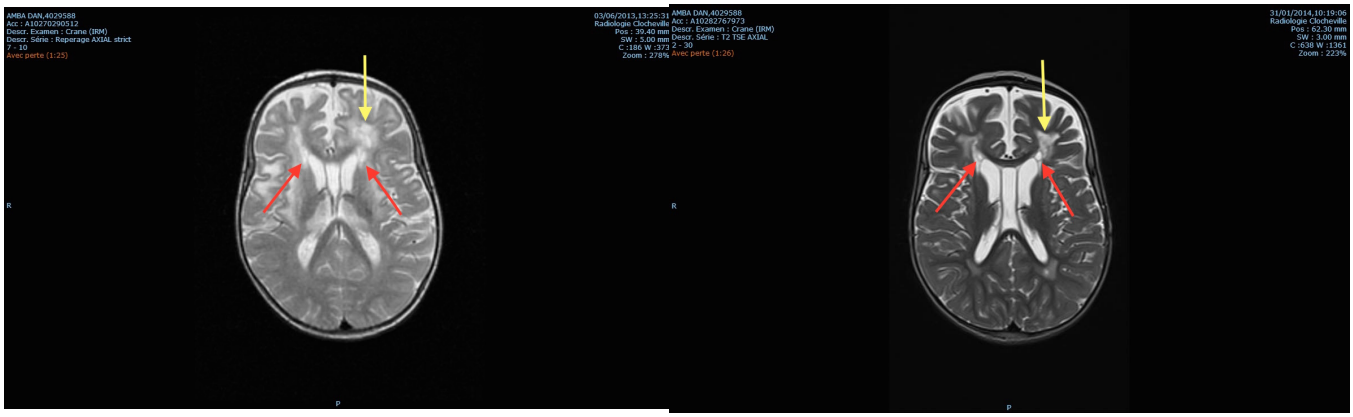


Figure 41 : dosage de l'activité de l'arginase de Dan et Nadège avant et après traitement

II.C.2.b.i.3)Évolution des lésions à l'IRM

Les lésions initialement décrites à l'IRM de Dan du 3 juin 2013 sont relativement stables le 31 janvier 2014, soit un an et demi après le traitement. Les lésions des noyaux gris centraux sont moins marquées, de même que les anomalies de signaux de la substance blanche. En revanche, les images kystiques sont stables (Figure 42).



Les lésions en hypersignal T2 visibles sur l'IRM de gauche du 3 juin 2013 semblent stables sur l'IRM de droite de janvier 2014.

Figure 42 : IRM cérébrale axiale T2 de Dan avant traitement (gauche) et après traitement (droit)

II.C.2.b.ii Évolution de Nadège après traitement par DFMO

II.C.2.b.ii.1) Évolution clinique

Nadège quitte l'hôpital de Tours pour l'hôpital de Vierzon le 29 juillet avec une nette amélioration de ses troubles neurologiques. Ses symptômes déficitaires diminuent, elle arrive à marcher sans canne. Nadège est moins hypophone avec une reprise de la communication qui reste limitée mais présente. Elle n'a plus d'irritation pyramidale. Son humeur s'est stabilisée.

Nadège est revue le 17 septembre 2013, pour un bilan à environ 3 mois post traitement par le docteur Maakaroun-Vermesse qui note une nette amélioration clinique. Nadège est de moins en moins hypophone, elle est autonome pour les gestes de tous les jours mais se plaint encore de tremblements et de troubles de la mémoire.

Le bilan clinique fait à 7 mois du traitement, le 11 février 2014, montre que Nadège fait des progrès et communique normalement sans anomalie de la parole. De plus ses troubles de l'humeur ont disparu. Elle ne présente pas de déficit neurologique franc et se plaint moins de ses troubles de la mémoire, son *minimental score* (MMS) est à 26/30 au lieu de 19/30 lors de son précédent rendez-vous. Les tremblements ont disparu à l'action.

Son état clinique à un an du traitement, le 15 juillet 2014, est stabilisé et seuls des troubles de la mémoire sont encore présents. Un bilan neuropsychiatrique est effectué pour évaluer son état mnésique mais d'interprétation impossible du fait du niveau social de la patiente et de l'absence d'évaluation orthophonique initial. L'amélioration du MMS est néanmoins significative. Nadège déclare avoir des troubles visuels intermittents non objectivés. Ses préoccupations principales se portent sur son fils qu'elle voit régulièrement et sur l'absence d'amélioration de son état neurologique. Elle a réussi à trouver un foyer à Chambray-les-Tours et prend des cours de français.

À un an et demi, son état mnésique est stable et le bilan se focalise sur sa situation sociale précaire et sur l'absence de logement fixe. Ce point est remis à l'ordre du jour avec une assistante sociale. Elle rend visite quotidiennement à son fils au SSP mais a arrêté les cours de français et n'a pas de logement fixe.

À environ deux ans de la fin de son traitement, le 14 avril 2015, Nadège est logée en foyer à Tours. Son état mnésique semble s'être amélioré et un nouveau bilan est prévu sans que les résultats ne soient encore disponibles. Elle récupère son fils tous les jours et les services sociaux s'efforcent de trouver un logement proche de l'hôpital.

Au total, il semble que Nadège ait très bien récupéré de ses troubles neurologiques et seuls semblent persister des troubles mnésiques à bas bruit. Sa prise en charge est bien coordonnée et ses préoccupations sociales, stabilisées. Il semblerait qu'elle ait maintenant un logement fixe.

II.C.2.b.ii.2) Évolution des signes biologiques

II.C.2.b.ii.2)a) Évolution du bilan sanguin

Le 14 avril 2015 l'hémoglobine de Nadège s'est normalisé avec une valeur à 12,0 g/dL (N : 11,5-16,0 g/dL). Les globules blancs sont normaux sur la NFS du même jour à 5,4 G/L (N : 4-10 G/L) (Tableau XXV page 119).

De même, à la même date, le syndrome inflammatoire de Nadège a nettement régressé. Sa protidémie était à 77 g/L le 1er juillet 2013 après initiation du traitement. Le 14 avril 2015, l'albuminémie calculée à l'EPPs est normale à 44,9 g/L (N : 37-50 g/L) (Tableau XXV page 119). L'hypergammaglobulinémie polyclonale, sur l'EPPs du même jour est, bien que toujours présente, en légère diminution avec une valeur à 21,2 g/L (N : 8-14 g/L) au lieu de 27,9 g/L le 17 juin 2013 (Figure 43). De même le profil des Immunoglobulines montrent une diminution des Ig avec des IgA à 1,90 g/L (N : 0,67-2,13 g/L), des IgG à 18,50 g/L (N : 6,75-12,53 g/L) et des IgM à 3,72 g/L (0,71-2,01 g/L). La décroissance est la plus marquée pour les IgM qui étaient initialement plus élevées (Figure 43).

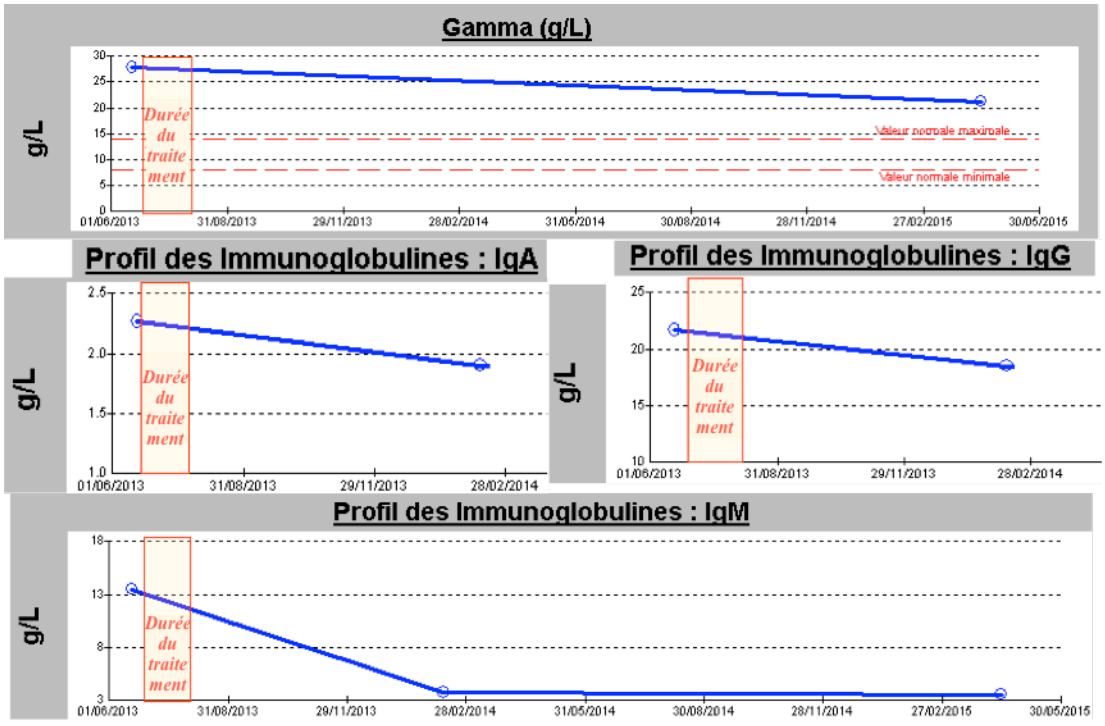


Figure 43 : évolution des gammaglobulines, des IgA, des IgG et des IgM dans le sang de Nadège avant et après traitement

Tableau XXV : résultats biologiques sanguins de Nadège avant et après traitement (en vert : les valeurs pendant lé durée du traitement)

Nadège Sanguin		14/06 2013	17/06 2013	18/06/ 2013	27/06/ 2013	29/06/ 2013	01/07/ 2013	02/07/ 2013	05/07/ 2013	09/07/ 2013	11/07/ 2013	11/02/ 2014	14/04/ 2015
Hb (g/dL) (11,5-16)		9,5	8,9		9,2	**8,8**	**8,6**	**8,9**	**9,4**	**9**	**9,0**	11,3	12
VGM (fL) (80-100)		81	81,2		81,8	**82,2**	**82,1**	**82,4**	**81,8**	**82**	**82,8**	84,8	83,8
GB (G/L) (4-10)		4,3	4,2		4	**3,7**	**3,6**	**4,1**	**3,7**	**4,3**	**3,5**	4,2	5,4
PNN (G/L) (1,5-7,5)		1,51	1,36		1,36	**1,49**	**0,85**	**1,23**	**1,02**	**1,07**	**0,70**	2,44	2,75
Prot (g/L) (65-80)			81				**77**						87
Alb (g/L) (37-50)		38	36,5				**34**						44,9
Gamma (8-14)		27,9											21,2
VS (mm) (<10)					96								
CRP (mg/L) (<6)		<1					**<1**		**<1**		**<1**	<1	
IgA (g/L) (0,67-2,13)				2,27								1,90	
IgG (g/L) (6,75-12,53)				21,70								18,50	
IgM (G/L) (0,71-2,01)				13,50								3,72	
Ac anti-β2GP1 (U/mL)	**IgG** (N : < 8)		27										
	IgM (N : < 8)		>100										
Ac anti-cardiolipide	**IgG** (N : < 10 GPL.U)		19										<10
	IgM (N : < 7 MPL.U)		>80										19

Hb : hémoglobine ; VGM : volume glomérulaire moyen ; GB : globules blancs ; PNN : polynucléaires neutrophiles ; prot : protidémie ; alb : albuminémie ; gamma : gammaglobulinémie ; VS : vitesse de sédimentation ; CRP : C *reactive protein* ; PCT : procalcitonine ; IgA : immunoglobulines A ; IgG : immunoglobulines G ; IgM : immunoglobulines M.

II.C.2.b.ii.2)b) Contrôle parasitologique sanguin

Le contrôle de la détection de parasites dans le sang de Nadège revient négatif le 15 juillet 2013.

II.C.2.b.ii.2)c) Évolution de l'examen du LCR

II.C.2.b.ii.2)c)i) *Contrôle cytologique et biochimique du LCR de Nadège*

À la fin du traitement, le 15 juillet 2013, la protéinorachie de Nadège reste subnormale avec une valeur de 0,57 g/L (N 0,15-0,45 g/L). La cytorachie est à 8 cellules/µL mais reste supérieure à 5 cellules/µL. Une nette diminution du syndrome inflammatoire dans le LCR est visible (Tableau XXVI).

Tableau XXVI : profil évolutif de l'analyse cytologique et biochimique du LCR de Nadège avant et après traitement

LCR	Mère		
	GB (/µL)	Glycorrachie (2.75-4.4 g/L)	Protéinorachie (0.15-0.45 g/L)
25 juin 2013		3,29	0,85
TRAITEMENT			
15 juillet 2013	8	3	0,57

LCR : liquide céphalorachidien ; GB : globules blancs

II.C.2.b.ii.2)c)ii) *Contrôle parasitologique du LCR*

Le contrôle parasitologique effectué dans le LCR de Nadège est négatif le 15 juillet 2013.

II.C.2.b.ii.2)d) Évolution des taux d'anticorps

II.C.2.b.ii.2)d)i) *Évolution de la sérologie parasitaire*

La sérologie parasitaire de Nadège est effectuée régulièrement après le traitement parasitaire. Une décroissance du taux d'IgG anti-*T. b. gambiense* est observable à l'IFI. La sérologie est négative le 14 avril 2015 avec une valeur à 100 pour des valeurs considérées comme positives lorsqu'elles sont supérieures ou égales à 400 (Tableau XXVII).

Tableau XXVII : sérologie parasitaire de Nadège avant et après traitement

Sanguin	Mère	
	IF (IgG) Positif ≥ 400	HG Positif ≥ 32
25 juin 2013	1200	2048
TRAITEMENT		
15 juillet 2013	800	128
11 février 2014	400	
14 avril 2015	100	

IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.C.2.b.ii.2)d)ii) *Évolution de la détection des anticorps dans le LCR*

Le taux d'IgG anti-*T. b. gambiense*, auparavant dosé à 16 avant le traitement, diminue à 8 deux semaines après le début du traitement (Tableau XXVIII).

Tableau XXVIII : évolution des anticorps dans le LCR de Nadège avant et après traitement

LCR	Mère	
	IF (IgG) Positif ≥ 1	HG Positif ≥ 1
26 juin 2013	16	32
TRAITEMENT		
15 juillet 2013	8	32

LCR : liquide céphalo-rachidien ; IF : immunofluorescence ; HG : hémagglutination

II.C.2.b.ii.2)e) Évolution du dosage des cytokines sanguines

La diminution des valeurs des cytokines sanguines de Nadège avant et après traitement, respectivement le 25 juin 2013 et le 29 août 2013 est moins marquée que pour son fils (Tableau XXIX).

Tableau XXIX : valeur des cytokines de Nadège avant et après traitement

Sanguin	Mère	
	Pré-thérapeutique 25 juin 2013	Post-thérapeutique 29 août 2013
RsIl-2 (pg/mL)	528	408
Il-6 (pg/mL)	< 4	< 4
TNFα (pg/mL)	5	6

RxIl-2 : récepteur soluble à l'Il-2 ; Il-6 : interleukine-6 ; TNF-α : *tumor necrosis factor-α*

II.C.2.b.ii.2)f) Arginase

Comme pour son fils Dan, la décroissance de l'activité de l'arginase est objectivable sur les différentes dosages effectués entre le 25 juin 2013 et 1 février 2014. Avec la première valeur du 25 juin située dans la zone grise et la dernière valeur située en dessous de celle-ci (Figure 41).

II.C.2.b.ii.2)g) Évolution de la concentration sérique d'anticorps anti-cardiolipide IgG et IgM et d'Ac anti-bêta2GP1 IgG et IgM de Nadège

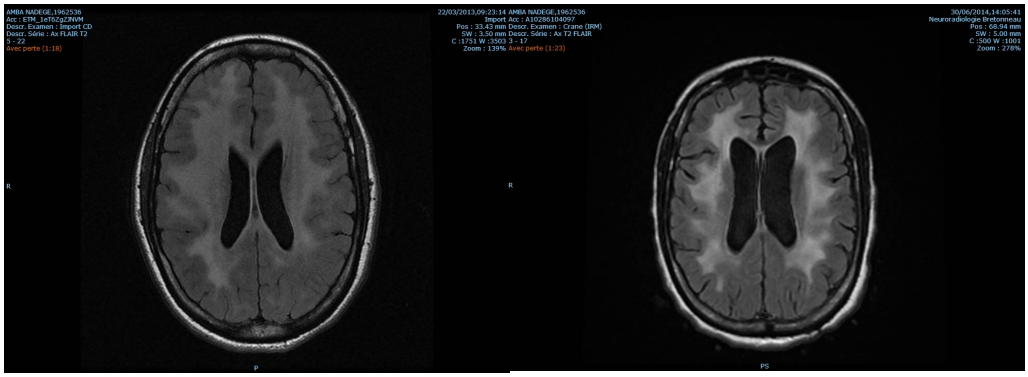
La franche diminution des concentrations sanguines de ses Ac montre bien la bonne évolution de Nadège et l'efficacité du traitement (Tableau XXX).

Tableau XXX : évolution de la concentration sanguine des anticorps anti-β2GP1 et anti-cardiolipide de Nadège avant et après traitement

Sanguin		Mère	
		Pré-thérapeutique 17 juin 2013	Post-thérapeutique 14 avril 2014
Ac anti-β2GP1 (U/mL)	IgG (N : < 8)	27	Non fait
	IgM (N : < 8)	> 100	Non fait
Ac anti-cardiolipide	IgG (N : < 10 GPL.U)	19	< 10
	IgM (N : < 7 GPL.U)	> 80	19

II.C.2.b.ii.3) Évolution des lésions à l'IRM

Le 30 juin 2014, les hypersignaux diffus au niveau de la substance blanche de Nadège sont stables par rapport à l'IRM du 22 mars 2013, pré-thérapeutique. Un élargissement des ventricules latéraux est visible après traitement (Figure 44).



Les lésions en hypersignal diffus de la substance blanche à l'IRM du 22 mars 2013 à gauche et celles de l'IRM de droite du 30 juin 2014 sont stables

Figure 44 : IRM cérébrale axiale T2 FLAIR de Nadège avant traitement (gauche) et après traitement (droite)

III Discussion

Les trypanosomoses humaines africaines (THA) sont des maladies intertropicales spectaculaires à cause de leurs symptômes neurologiques et les troubles du sommeil qui y sont associés. Elles marquent donc les esprits en zone d'endémie et sont attachées à des croyances fortement liées au degré d'éducation des patients. Cet état de fait aboutit, souvent, à l'ostracisassion des personnes infectées, et est encore, de nos jours, une barrière à la lutte contre les THA(54).

À l'époque coloniale, ces maladies ont été fortement décrites et étudiées, et les différents tableaux cliniques ont été unifiés en une seule pathologie au début du XX^{ème} siècle comme nous l'avons vu dans le chapitre sur l'histoire de l'évolution épidémiologique (I.A.1). Les avancées médicales du début du XX^{ème} siècle ont bénéficié à la décroissance des cas de maladie du sommeil. Entre le début de la mise en place des équipes mobiles de lutte contre les THA par Jamot et les années 1960, les cas de THA se sont raréfiés et certains parlent de « quasi-élimination » de la maladie(2). Les THA restaient un problème mineur au moment de l'indépendance des états africains dans les années 1960.

Cependant, à la suite des multiples conflits survenus sur place dans les années suivant cette période, les deux types d'affection ont resurgi, que ce soit la forme ouest africaine à *T. b. gambiense*, ou est africaine à *T. b. rodhesiense.* Les THA sont redevenues un problème majeur dans de nombreux pays à la fin du XX^{ème} siècle(2).

Les THA sont des maladies à transmission vectorielle obligatoire, et la mouche tsé-tsé n'existent pas au-delà du 14^{e} degré de latitude nord(2). La maladie du sommeil est, de ce fait, une maladie uniquement africaine et les pays « du nord » sont donc épargnés par les épidémies.

Cependant, avec l'augmentation des flux migratoires, des cas ponctuels de maladies dites « tropicales », importés par les migrants, sont possibles dans nos pays. Le paludisme en est un exemple bien connu puisqu'il doit être évoqué systématiquement lors de fièvres de retour de zone d'endémie et qu'un centre de référence français (CNR) efficace existe qui recense tous les cas annuels(217). Par exemple, sur l'année 2013, un nombre important de cas de paludisme ont été signalés en France avec 2171 cas rapportés au CNR du paludisme(1).

Mais les maladies tropicales ne sont pas le seul apanage des migrants et des infections par transfusions sanguines, transplantations d'organe ou transmissions verticales au cours de la grossesse peuvent se rencontrer. Il a déjà été décrit des cas de leishmaniose viscérale, ou de récurrence de la maladie, après des transplantations(218)(219)(220). De même des cas de maladie de Chagas congénitales se retrouvent dans la littérature(221).

Les THA ne font pas exception et si la transmission vectorielle est la voie principale de propagation de la maladie, d'autres modes de transmission rarissimes sont possibles dans et hors zone d'endémie comme

nous l'avons indiqué au chapitre I.A.6 « Modes de transmission ».

Les deux cas de THA observés en 2013 au CHRU de Tours au sein d'une même famille ont, chacun, concrétisé cet état de fait pour cette maladie.

La mère, Nadège, est une réfugiée politique originaire de l'ouest de la RDC. La RDC est, actuellement, une des zones les plus touchées comme nous l'avons évoqué au chapitre I.A.7.a. Elle aurait aussi séjourné récemment en Angola, pays également touché par la maladie du sommeil depuis longtemps(222), ce qui laisse planer un doute sur l'origine exacte de sa contamination. Géographiquement, il est cependant possible de parler de « THA de l'ouest africain », comme semble également l'indiquer les éléments cliniques que nous avons pu recueillir (chapitre II) et qu'il est donc possible d'analyser, à présent, au vu de la littérature.

Pour ce qui est de l'évolution de la maladie, les renseignements récupérés par les différents cliniciens qui ont suivi la patiente au début de son histoire clinique, diffèrent sur un point : son arrivée en France est notée en 2010, 2011 voire 2012. Nous supposerons cependant que madame AMB… est arrivée en mars 2010 comme l'atteste les derniers courriers la concernant, correspondances qui sont certainement plus fiables grâce à la normalisation de la communication avec elle et le fait qu'elle ait pris des cours de français. Cela fait donc, au moment du diagnostic en mai 2013, au moins trois ans que Nadège réside en France et qu'elle est porteuse du parasite.

Au moment du diagnostic, elle est en phase tardive de la maladie. Elle présente donc une forme chronique de la maladie qui, comme nous l'avons vu, se développe sur plusieurs années dans cette forme ouest africaine comme évoqué dans le Tableau III (66). La période d'incubation, avant le début des symptômes cliniques, n'est pas calculable avec les données dont nous disposons.

Avant que le diagnostic ne soit porté, et d'après les éléments que nous avons pu recueillir, elle a développé différents symptômes rencontrés fréquemment dans la maladie en phase tardive.

Il existe des troubles du sommeil objectivables par son état léthargique et son ralentissement psycho-moteur. À son arrivée à Tours, elle est somnolente, « très ralentie, quasi mutique ». Cependant, les EEG faits à Bourges début 2013 et à Tours (chapitres II.A.2.a et II.A.2.b) lors de son hospitalisation ne retrouvent pas de déclenchement inapproprié de sommeil paradoxal visualisable par des SOREMP comme cela se rencontre pourtant dans les THA(76). Le fait que les examens oculomoteurs et musculaires n'aient pas été pratiqués en parallèle et sur 24 heures peut expliquer ce déficit sémiologique.

On retrouve, par ailleurs, les signes neurologiques classiques de la phase tardive de la maladie :

- Nadège présente des troubles psychiatriques qui l'amènent à consulter durant le mois de son hospitalisation à Tours. Ces symptômes sont très présents dans les cas de THA, avec une agitation, des cris qui fluctuent avec une confusion. Elle présente également des troubles du

comportement notamment un délire paranoïaque. Lors de l'anamnèse faite à Tours, il est noté un syndrome dépressif. Quelqu'en soit l'étiologie, les troubles psychiatriques sont souvent remarqués par les proches lors de leur apparition. Le fait que Nadège soit réfugiée politique, et qu'elle soit donc isolée en France, a peut-être rendu l'identification des troubles plus difficiles : personne ne connaissant son état antérieur ;

- Nadège a un déficit moteur fluctuant, lors de son hospitalisation à Bourges, avec des troubles de la marche, en effet il est noté qu'elle « marche avec des cannes » avant son hospitalisation à Vierzon (II.A.2.a). Ce caractère fluctuant, souvent mal défini des troubles moteurs, est décrits fréquemment dans la maladie lors des stades avancés(71). À son arrivée à Tours, en plus du léger déficit du membre inférieur droit, elle présente une irritation pyramidale et des mouvements choréiques du visage et des membres inférieurs assez typiques(71). L'examen de la sensibilité de la patiente n'est pas réalisable mais cela n'exclue pas la possibilité de troubles chez cette patiente ;
- En dernier lieu elle présente une crise convulsive qui l'amène à l'hôpital de Vierzon puis Tours. On ne sait pas combien de crises sont survenues avant celle-ci, mais l'anamnèse note des épilepsies sans que l'on connaisse le début des troubles. Cela est bien décrit chez les patients sommeilleux(71).

La présence de ces symptômes neurologiques a conduit l'équipe médicale à réaliser des IRM, à Bourges en janvier 2013 et à Saint-Anne en mars 2013. Les différentes IRM retrouvent des hypersignaux T2 de la substance blanche ce qui pose le diagnostic de « leuco-encéphalopathie diffuse » et entraine une recherche étiologique large (Figure 34). Selon Kager, même si l'IRM ne joue pas de rôle diagnostic dans les THA, les hypersignaux T2 bilatéraux et confluents de la substance blanche sont révélateurs lors des stades tardifs de la maladie avec encéphalopathie. Ces images permettent uniquement d'objectiver une leucodystrophie, mais les THA devraient être, si le contexte concorde avec la suspicion diagnostique, une des étiologies à rechercher(223).

En plus, des symptômes révélateurs de la phase tardive de la maladie, certains symptômes de la phase lymphatico-sanguine (I.B.3.a) sont retrouvés comme l'HSM à la clinique et lors d'échographies abdominales successives, à Bourges, en mars 2013 et à Tours. Aucune fièvre n'est objectivée lors de son hospitalisation à Tours, ni d'ADNP sans que cela ne réfute le diagnostic puisqu'ils peuvent avoir disparu lors des stades II de la maladie(3). De même pour les céphalées ou les trypanides qui ne sont pas présents dans tous les cas de THA même s'ils sont souvent retrouvés(3). En revanche, les troubles cardiovasculaires sont présents avec à l'ECG des troubles de la repolarisation notés à Bourges et aux urgences de Tours. Les troubles de la conduction sont fréquents et augmentent avec le stade de la maladie comme nous l'avons décrit au chapitre I.B.3.a.ix. En revanche, les anomalies cardiaques, visualisables sur l'ETT du 18 juin, montrent une insuffisance cardiaque avec une FEVG à environ 50% de

la normale. Ces anomalies font suspecter une endocardite non retrouvée à l'ETO ultérieure. Ces anomalies sont rattachées à une cardiomyopathie du post-partum de Nadège et n'ont *a priori* pas de rapport avec la maladie du sommeil. Cependant, des insuffisances cardiaques seraient possibles avec des fibroses cardiaques décrites sur des autopsies réalisées en Afrique sans que l'étiologie trypanienne ne soit certaine(74), une étude plus récente qui décrit des dysfonctions ventriculaires gauches réversibles après traitement efficace pourraient étayer l'origine parasitaire mais de plus amples études semblent nécessaires(75).

Les examens biologiques effectués, chez la maman, identifient des signes pouvant être rattachés, *a posteriori* à la THA. Il existe une anémie dès son hospitalisation à Bourges, anémie retrouvée également à Vierzon puis à Tours. L'anémie oscille entre 8,5 et 9 g/dL avant le diagnostic. En revanche, aucune hyperleucocytose, ni CRP augmentée n'est présente. La neutropénie légère avec des valeurs supérieures à 0,5 G/L sont à mettre très certainement en relation avec les valeurs normales des PNN plus basses chez les patients d'origine africaine(224). La protidémie est à la limite supérieure de la normale et l'hypoalbuminémie est fluctuante (Table XIV). L'absence de syndrome inflammatoire évident, sur les globules blancs, la CRP, la protidémie et l'albuminémie, est peut être à mettre en rapport avec sa forme chronique de la maladie qui évolue depuis au moins trois ans. L'EPPs montre une hypergammaglobulinémie polyclonale à 2 fois la normale. Le profil des immunoglobulines sanguin est le plus révélateur avec des concentrations d'IgA légèrement supérieures à la normale, des IgG à 2 fois la normale et des IgM à 7 fois la normale (Table XIV). L'augmentation des immunoglobulines plus marquée sur les IgM est caractéristique des THA comme nous l'avons évoqué au chapitre I.C.1.b. La VS est au delà des normales. Ce signe biologique est le seul objectivant, chez Nadège, un syndrome inflammatoire. Il pourrait aussi être en rapport avec l'hypergammaglobulinémie à IgM principalement. Une autre anomalie biologie de la maladie est aussi rencontrée chez Nadège qui a le 17 juin 2013 des auto-Ac à des titres élevés. Ces auto-Ac sont des Ac anti-β2GP1 et anti-cardiolipide. Cela prouve bien l'état d'hyperactivation des lymphocytes B retrouvé dans la maladie du sommeil (Table XIV) (32). D'autre part, l'augmentation des IgM non spécifiques peut entrainer des errances diagnostic comme cela a été décrit(225). Chez Nadège, Les IgM anti-EBV ont amener à discuter une primo-infection. Une méningite lymphocytaire, concordant avec le diagnostic, est détectée lors de la PL de janvier 2013 et lors de celle du 17 juin 2013, ainsi qu'une hyperprotéinorachie inférieure à 1 g/L. L'index des IgG est supérieur à la normale avec une valeur à 2,94 pour une limite normale supérieure à 0,70 (Table XVI). Ce qui peut être mis en rapport avec une hyperproduction intrathécale d'immunoglobulines. Nous ne disposons pas de chiffres pour les IgM intrathécaux.

Le tableau clinique et biologique de Nadège est donc assez évocateur de THA mais la prise en charge de Nadège fractionnée, à Chartres, Bourges, Sainte-Anne, Vierzon et enfin Tours, rend l'histoire de la maladie de la patiente difficile à unifier. De plus, la condition de réfugiée, le problème linguistique, et

enfin les troubles psychiatriques n'ont pas dû améliorer cette situation. Tout ceci a très certainement contribué au diagnostic retardé de maladie du sommeil.

Les circonstances de la découverte de la THA sont, en effet, originales avec la mise en évidence du parasite dans le LCR de son fils et la mise en parallèle rétrospective des symptômes de la patiente et du diagnostic potentiel.

La confirmation diagnostique a été faite sur la détection des anticorps par deux techniques différentes au laboratoire de la Pitié-Salpêtrière, une IFI et une HG qui ont été positives dans le sang et le LCR (Tableau XIX et Tableau XX). La présence de parasites n'a pu être mise en évidence. Néanmoins, d'autres signes indirects de THA étaient présents telle que la présence de cellules de Mott (Figure 38).

Pour ce qui est de l'espèce de trypanosome en cause qui, comme nous l'avons vu, conditionne en partie le choix thérapeutique (Tableau X et chapitre I.D.2), le diagnostic de THA à *T. b. gambiense* est conforté par plusieurs données principales : sa région d'origine à l'ouest de l'Afrique où le parasite gambien est présent, contrairement au parasite rhodésien ; son tableau clinique d'évolution plus chronique qu'aigu et enfin la confirmation par l'utilisation d'antigènes spécifiques de *T. b. gambiense,* bien que des croisements entre les deux parasites soient possibles.

Ces arguments expliquent que même si nous avions les possibilités techniques de le faire, nous n'avons pas utilisé les méthodes moléculaires pourtant nombreuses (I.C.2.b) et qui, en l'absence de parasite comme ici, auraient pu, en principe, nous permettre un diagnostic de sous-espèce certain. Cependant, même sur le terrain, leur utilisation reste limitée pour plusieurs raisons.

Avant tout, elles nécessitent une technologie avancée : des machines, des réactifs, du personnel formé. Des avancées ont été faites pour alléger les procédures comme supprimer les thermocycleurs ou aider à la lecture des résultats. Mais certains points ne peuvent être contournés comme la nécessité d'une chaine du froid pour conserver les échantillons ou la nécessité de réactifs couteux. Ces techniques sont donc difficilement réalisables dans les lieux reculés des zones d'endémie ce qui rend les avancées observées dans les laboratoires moins utilisables que les techniques actuellement appliquées sur le terrain.

Un autre biais des techniques de biologie moléculaire est l'interprétation des résultats. Les techniques de biologie moléculaire sont très spécifiques lorsqu'elles sont pratiquées dans des conditions adéquates. La contamination des échantillons par de l'ADN extérieur doit être évitée au maximum grâce à des manipulations sous des hottes, dans des pièces différentes, en asepsie la plus stricte possible. Ce qui est très contraignant et chronophage. Jusqu'à présent, la part des examens de biologie moléculaire dans le contrôle et la surveillance des THA s'est limitée à la recherche clinique ou aux études épidémiologiques en collectant les échantillons lors de déplacements sur le terrain et en les traitant de façon groupée dans les laboratoires de références en capitale(226)(227). La méthode de FISH possiblement réalisable à

température ambiante paraît cependant très prometteuse, simple et sensible, adaptable aux conditions de terrain. De même que la technique NASBA(5).

Par ailleurs, la plupart des tests disponibles à ce jour, lorsqu'ils sont utilisés pour le diagnostic individuel comme ici, permettent de mettre en évidence la présence du genre *Trypanozoon*, qui comprend différentes sous-espèces dont certaines sont non pathogènes pour l'Homme. Les techniques de biologie moléculaire permettant de déterminer la sous-espèce sont moins courantes et gagneraient donc à être développées(96).

Un des problèmes supplémentaire non encore résolu de ces techniques réside dans la possibilité de la présence de l'ADN des trypanosomes de la maladie du sommeil dans le génome humain comme cela a été montré avec *Trypanosoma cruzi*(3)(5). Enfin, comme dans toutes les pathologies infectieuses, les méthodes de biologie moléculaire prouvent la présence de l'ADN du parasite mais n'indiquent pas qu'il est encore vivant. Ce serait la détection de l'ARN trypanosomien qui permettrait d'indiquer si le parasite est actif comme quelques études l'ont montré avec succès(143). Le problème d'interprétation des résultats concerne aussi la reproductibilité insuffisante et la positivité prolongée des techniques de biologie moléculaires avec certaines sondes comme celles de l'ADN satellite, après un traitement efficace(228). À ce jour, à notre connaissance, aucune étude sur des échantillons suffisamment importants et sur une région suffisamment vaste n'a été développée en ce sens.

Ainsi, ces techniques de biologie moléculaire prometteuses restent pour l'instant plus du domaine de la recherche fondamentale que de l'utilisation purement médicale.

Le diagnostic de phase, qui lui aussi est important pour le traitement, a été porté sur les signes cliniques de phase tardive retrouvés comme nous l'avons vu précédemment et sur la cytorachie qui était à 280 cellules/µL. Lors d'une précédente publication, l'OMS en 1998 classait en phase II les patients avec une protéinorachie supérieure à 37 mg/100mL ou une cytorachie supérieure à 5 cellules/mm^3 avec ou sans parasite dans le LCR mais actuellement, la protéinorachie n'a plus de place dans le diagnostic de phase(3).

Le traitement choisi a été l'éflornithine avec un schéma thérapeutique classique. Dans les Pays en zone d'endémie, L'OMS depuis 2009 a rajouté le NECT sur la liste des médicaments essentiels et recommande cette combinaison en première intension pour les THA en phase II quel que soit le parasite. L'éflornithine (DFMO) est conseillée en deuxième intention lorsque le nifurtimox est contre-indiqué ou indisponible. Nadège a reçu un traitement à base de DFMO, en accord avec l'OMS. En effet, les bénéfices attendus de l'utilisation du NECT ne sont pas de mise en Pays industrialisés situés hors zone d'endémie :

- Le risque d'augmentation du taux de résistance au DFMO lors de son administration en monothérapie n'est pas d'actualité : les cas de THA étant rarissimes en France et non transmissibles à d'autres sujets.

- L'inconvénient lié à la durée d'hospitalisation et à la difficulté d'administration de la DFMO n'est pas un problème pour un CHRU de Pays développé.
- Le fait de n'utiliser qu'une molécule rend l'approvisionnement en médicament plus facile.
- Les taux de guérison sont estimés à 97% que ce soit avec le DFMO ou avec le NECT.
- Le nombre d'effets secondaires, en évitant la prise de Nifurtimox, est diminué.

Donc l'utilisation de DFMO seul n'est pas préjudiciable aux patients et simplifie la délivrance du traitement par l'OMS, surtout que le parasite incriminé est *T. b gambiense,* sous espèce sensible au DFMO(3).

Les effets secondaires du DFMO sont fréquents, supérieurs à 10%, comme pour le NECT(3). Ce sont ceux des anti-cancéreux comme évoqué dans un chapitre antérieur. Une NFS est prélevée deux fois par semaine. Cependant, il n'est pas conseillé d'arrêter le traitement lors de la survenue d'un trouble hématologique à la NFS. Ces deux risques sont à surveiller. Nadège a présenté lors du traitement une neutropénie iatrogène spontanément résolutive à l'arrêt du traitement (Tableau XXV).

L'évolution de Nadège a été marquée par une nette amélioration clinico-biologique. À l'été 2015, soit 2 ans après le diagnostic, Nadège n'a plus besoin de cannes pour marcher. Elle n'a plus de déficit moteur. Elle communique normalement et ne présente plus de troubles de l'humeur, ni de troubles psychiatriques (II.C.2.b.i.1)). L'IRM réalisée après traitement révèle une persistance des hypersignaux T2 initialement visualisés et montre un élargissement des ventricules latéraux (Figure 44). La lenteur de la normalisation des images est confirmée par les observations de Kager. De même, que l'élargissement des ventricules latéraux qu'il rattache à une atrophie cérébrale, qui bien que non typique des THA peut survenir après traitement sans retentissement clinique(223). Les examens biologiques sanguins montrent une décroissance voire une normalisation des anomalies initialement présentes. Son hémoglobine s'est normalisée, l'albuminémie a retrouvé un niveau normal. La protidémie, après s'être normalisée le 1er juillet 2013 est à nouveau un peu élevée avec un chiffre à 87 g/L (N : 65-80 g/L) sans qu'aucun lien avec sa THA traitée ne soit démontré (Tableau XXV). Son hypergammaglobulinémie et son profil des immunoglobulines est en nette régression (Figure 43) mais est long à revenir à la normal. Ce phénomène ne permet pas de suivi efficace sur ce paramètre. On peut quand même remarquer que les IgM semblent revenir à des concentrations normales plus tôt que les autres IgG. Ce qui a été noté dans le LCR des patients par l'OMS(3). Les auto-Ac anti-cardiolipide présents initialement à des valeurs élevées ont régressé avec un retour à la normale des IgG et des IgM nettement diminués (Tableau XXX). Ces différents éléments sont en faveur d'une diminution des troubles immunologiques de Nadège. La sérologie parasitaire faiblement positive au départ, est négative le 14 avril 2015 soit 1 an et 9 mois après la fin du traitement (Tableau XXVII). La normalisation de la sérologie a été longue mais cette évolution est normale en post-thérapeutique(3).

Selon l'OMS, ces paramètres indirects ne sont pas conseillés pour le suivi des patients que ce soit des patients en phase I ou II de la maladie lors du diagnostic. Seule la mise en évidence du parasite permet d'affirmer la rechute. D'autre part, en zone d'endémie, l'OMS ne conseille pas de suivi systématique des patients. En effet, les patients, en zone d'endémie, ne sont pas très compliants au suivi et le taux de rechute est faible, inférieur à 10 %, avec l'utilisation du DFMO(3) (I.D.2.a.ii.2)). S'il y a rechute, les patients viennent consulter pour symptômes cliniques évocateurs. La preuve absolue de rechute est la détection de parasites dans le sang ou le LCR, et principalement dans ce dernier car les rechutes sont plus fréquentes chez les patients diagnostiqués avec une THA au stade tardif. Normalement, le suivi dans le LCR doit être d'au moins six mois. Si la cytorachie est inférieure ou égale à 5 cellules/µL et qu'aucun trypanosome n'est détecté dans le LCR, le patient est considéré comme guéri(3). Dans le cas de Nadège, ces critères sont difficiles à appliquer. En effet, le 15 juillet 2013, elle n'a pas de parasite ni dans le sang, ni dans le LCR et la cytorachie est à 8 cellules/µL soit très proche des 5 cellules/µL recommandées par l'OMS. Même si le suivi sur le taux d'Ac dans le LCR n'est pas recommandé « officiellement », on note néanmoins une décroissance des valeurs, tout comme pour les taux sanguins. Le suivi effectué dans le LCR montre en effet une diminution des Ac par la technique d'IFI qui passe en dessous du seuil de positivité même si la diminution n'est pas objectivable par la technique d'HG (Tableau XXVIII). La possibilité de rechutes tardives avec la forme gambienne de la maladie rend le suivi souhaitable jusqu'à 2 ans post-traitement. Nous sommes arrivés aux deux ans et l'évolution biologique et clinique, comme nous venons de le voir, est encourageante. Si la cytorachie, lors de la prochaine visite, dans le LCR est inférieure ou égale à 5 cellules/µL et qu'aucun parasite n'y est détecté, la guérison pourra être certifiée selon les critères de l'OMS(3).

Les critères de suivi actuellement recommandés par l'OMS ne sont pas parfaits et d'autres marqueurs sont en cours d'évaluation. Les cytokines et l'arginase sanguines sont, entre autres, des marqueurs potentiels. Chez Nadège, la valeur des cytokines mesurée avant et après traitement ne change pas significativement (Tableau XXIX). Ceci est peut-être mis en rapport avec sa forme chronique de la maladie et ne permet pas d'invalider les cytokines comme marqueurs d'évolution de la maladie. Ceci d'autant plus que toutes les Interleukines n'ont pas été dosées, notamment l'Il-10. Les résultats montrés pour l'activité de l'arginase sanguine, technique très originale, en développement et pour lesquels nous avons été sollicités par l'équipe de Bordeaux travaillant sur le sujet, semblent néanmoins plus prometteurs. En effet, les concentrations ne sont pas très élevées avant traitement puisque le 25 juin 2013, l'activité de l'arginase est mesurée dans la zone grise mais on peut tout de même noter une décroissance lors des dosages ultérieurs avec une diminution d'1 UI/L entre le 25 juin 2013 et le 1er février 2014 (Figure 41). Ce résultat corrobore les données disponibles comme nous l'avons vu au chapitre I.D.3.d.iv et comme nous le reverrons chez Dan ci-dessous.

Le cas clinique de Dan est plus original que ce soit au niveau du mode de transmission ou du tableau clinique qu'il a développé.

La définition communément admise de THA congénitale est le diagnostic de THA chez un nouveau-né de mère infectée, survenant dans les cinq premiers jours de vie de l'enfant, afin de s'affranchir du risque de contaminations post-natales. Depuis 1933, 14 cas avec cette définition ont été signalés dont 13 à *T.b.gambiense* (41).

La difficulté du diagnostic de THA congénitale repose, en zone d'endémie, sur la possibilité qui existe, pour le nouveau-né de se faire piquer par une glossine infectée et ainsi de développer la maladie suite à une contamination « classique », vectorielle. La période des « cinq premiers jours de vie » est souvent remise en question en fonction des auteurs et de l'intervalle de temps qu'ils estiment nécessaire entre une piqûre et la dissémination dans le sang des trypanosomes chez les nouveaux infestés(41).

La découverte de THA chez un nouveau-né ou enfant de mère infectée, né hors d'Afrique et n'y ayant jamais séjourné, rend le diagnostic de THA congénitale quasi indiscutable. Dans la littérature, trois de ces cas ont été rapportés avec des diagnostics à 19, 22 et 24 mois. Nous pouvons supposer que cette transmission tardive se produit également sur le terrain, entrainant ainsi une sous-estimation des cas réels de transmission verticale. Ces cas diagnostiqués tardivement passant pour des THA inoculées par la mouche tsé-tsé(41). Il existe peu de cas cliniques publiés de transmission verticale, ce qui nous donne peu d'arguments pour analyser le cas clinique de Dan. Mais l'étude réalisée par Lindner montre que le lien entre la transmission verticale et le diagnostic de THA n'est pas systématiquement réalisé(41). Ce qui diminuerait le nombre de cas analysables sous le prisme de la transmission transplacentaire.

Comme Lindner l'a proposé, il nous semblerait donc intéressant que, dans les zones d'endémie, les femmes enceintes soient testées pour la maladie du sommeil afin d'anticiper les éventuelles transmissions verticales(41).

Comme nous l'avons vu au cours de l'anamnèse du cas clinique, Dan n'a jamais séjourné en zone d'endémie et nous pouvons donc conclure que la transmission est verticale, par passage transplacentaire du parasite lors de la grossesse. Le diagnostic ayant été posé tardivement, une autre possibilité serait une transmission néonatale. Et donc, la transmission congénitale n'est bien entendu vraie que si Dan n'a jamais été transfusé ou n'a jamais été en contact avec du sang de patient infecté par la maladie après sa naissance, ce qui semble le cas d'après les compte-rendu médicaux que nous avons consulté. Par ailleurs, nous n'avons pas de notions de transmission de *T. brucei* lors de l'allaitement mais des cas de maladie de Chagas transmise par ce biais sont reportés et on pourrait se demander si de tels cas sont possibles dans les THA(229).

Pour ce qui est du tableau clinique de Dan, il est noté que la grossesse s'est déroulée normalement et que le nouveau-né, né à terme, était normal (II.A.1.a). Il a été publié des avortements, des accouchements précoces et des hydramnios *per-partum* chez des femmes enceintes atteintes de

THA(230)(231). Mais il a aussi été reporté un cas de nouveau-né infecté né en bonne santé(232). Le fait que Dan soit né en bonne santé n'est donc pas un élément réfutant la transmission congénitale de la maladie.

Le début des symptômes porte initialement sur un retard global des acquisitions objectivé tardivement. Son développement est marqué par un retard psychomoteur important dont le début n'est pas bien mis en évidence, une cassure de la courbe staturo-pondérale et une hypotrophie sont décelés à 9 mois de vie (I.B.4.b.i). Ces éléments ne sont pas spécifiques et ont probablement de nombreuses étiologies pédiatriques que nous ne sommes pas en mesure de discuter ici, mais ils sont cependant souvent retrouvés chez les enfant parasités par le trypanosome qui sont très asthéniques(39).

Comme nous l'avons évoqué au chapitre I.B.4.b.i sur les THA chez les enfants, les tableaux cliniques de la phase précoce et de la phase tardive sont souvent concomitants(2). Dan ne fait pas exception, et en reprenant rétrospectivement les différents éléments présents dans le dossier, nous pouvons constater que les signes des deux phases coexistent. Parmi les signes de la phase I, il présente une fièvre oscillante fréquemment retrouvée chez les jeunes patients et une HSM qui est aussi possible dans ce contexte. Les ADNP sont palpées. Elles sont dites multiples mais la localisation n'est pas précisée dans le dossier. Si elles avaient étaient cervicales, elles auraient également pu être un bon argument et être rattachées à la maladie du sommeil(2). Les lésions cutanées ne sont pas vues mais cela est compatible avec le fait que Dan soit d'origine ethnique africaine (I.B.3.a.iv) (3). Compte tenu de l'âge de Dan, le syndrome douloureux et les céphalées ne sont pas objectivables de même que tout l'examen sensitif. L'épanchement péricardique, visualisé sur l'échographie cardiaque du 23 mai 2013 est mis en relation avec une virose probable mais les descriptions faites de l'atteinte cardiaque au cours de la trypanosomose peuvent laisser à penser que l'étiologie parasitaire ne peut être exclue bien qu'aucun trouble du rythme cardiaque, plus classique dans cette maladie ne soit noté (I.B.3.a.ix) (71).

Les éléments d'un tableau clinique compatibles avec la phase II d'une THA comprennent l'hypotonie axiale et périphérique qui est classique chez les enfants lors de cette affection, de même que les mouvements dystoniques qui sont apparus au cours de l'hospitalisation(71). Si les troubles du sommeil ne sont pas mis en avant lors de l'examen clinique de cet enfant, l'absence de réponse aux stimuli visuels ou moteurs peut être lié à son retard global des acquisitions ou à un état léthargique retrouvé classiquement chez les patients infectés.

L'IRM réalisée le 3 juin 2013 retrouve, comme pour sa mère, des lésions en hypersignal T2 non seulement de la substance blanche, préférentiellement en fronto-temporal, mais aussi des noyaux gris centraux (Figure 33). Lésions que Kager a décrites dans une publications de 2009 (223). Ces anomalies ont permis, également, de poser le diagnostic de leucodystrophie. La similitude d'aspect entre la maman et son nouveau-né amènera à réaliser une recherche étiologique large comprenant des recherches génétiques et métaboliques étendues. Parmi toutes les hypothèses évoquées qui s'avéreront négatives,

seule une maladie d'Alexander semblait pouvoir être retenue par les neurologues au moment où le diagnostic a été porté en bactériologie.

Les différents examens biologiques retrouvent une anémie, une hyperleucocytose, une CRP et une VS augmentées qui bien que non spécifiques du diagnostic peuvent y être rattachés et révèlent une érythrophagocytose et un syndrome inflammatoire(20) (Tableau XIII). Mais les éléments les plus évocateurs restent les anomalies du profil des Ig prédominants sur les IgM qui sont dosés à 4 fois la normale (I.C.1 et Tableau XIII). La maladie du sommeil n'est pas la seule étiologie à évoquer devant une hyperglobulinémie polyclonale prédominant sur les IgM. Des états d'hyperimmunité liés à des infections bactériennes, virales ou parasitaires chroniques, de même que des maladies auto-immunes, des hépatopathies voire des déficits immunitaires sont possibles(233). La maladie du sommeil n'est qu'un diagnostic différentiel de ce genre d'anomalie lorsque le contexte est concordant.

Les PL successives retrouvent une hyperprotéinorachie. Si la première PL, du 3 juin 2013, très hémorragique, n'a pas permis de compte leucocytaire fiable, la deuxième PL du 24 juin 2013 retrouve bien une méningite lymphocytaire (Table XV), même si l'âge de l'enfant est à prendre en compte dans l'interprétation de la cytorachie de Dan. En effet entre un an et 4 ans, une augmentation de la cytorachie est définie par un compte cellulaire supérieur à 20 cellules/µL(71).

C'est d'ailleurs sur cette deuxième PL que le diagnostic fortuit est posé par la mise en évidence d'un parasite vivant lors du dénombrement cellulaire effectué par monsieur Laullier en bactériologie (Figure 31 et Figure 32). Ce qui permet aussi de poser le diagnostic de phase II avec certitude(3). La confirmation parasitaire par les méthodes de détection évoquées au chapitre I.C.4 et utilisées chez sa mère retrouvent le parasite dans le sang (Figure 35 et Figure 37) permettant de supposer une parasitémie forte au moment de la prise de sang (> 10 000 trypanosomes/mL). Compte tenu de la présence prouvée du parasite, les examens de recherche d'Ac faits dans le sang et le LCR de Dan ne s'avéraient pas nécessaires pour le diagnostic. Cependant, afin de pouvoir effectuer ensuite le suivi post-thérapeutique, ces examens ont été réalisés. Le résultat de la recherche sérologique de Dan est positif mais négatif dans le LCR et ne sera d'ailleurs pas poursuivi au cours du suivi dans ce dernier. On peut remarquer deux choses néanmoins, les d'Ac dans le sang de Dan sont faibles avec un résultat négatif en IF et à la limite du seuil de détection en HG (Tableau XVII). Les taux d'Ac chez sa mère étaient élevés (Tableau XIX) ce qui laisse à supposer que les Ag des deux techniques utilisées pour la détection des Ac chez ces patients sont bien adaptés à cette souche parasitaire. On peut alors imaginer que ces taux faibles d'Ac sont peut être plutôt liés à une immaturité immunologique liée à l'âge comme le reporte MSF, mais Dan a déjà un an, ou à la dépression du système immunitaire régulièrement constatée chez les patients infectés(234)(32). D'autre part, la détection des Ac dans le LCR, au pur ou après dilution, permet habituellement de statuer en faveur d'une THA mais l'IF faite sur le LCR de Dan est négative et l'HG positive sans dilution (Tableau

XVIII). Une explication probable de cette dissociation sérologique serait la contamination du LCR par du sang périphérique.

Pour ce qui est de la sous-espèce en cause, les arguments épidémiologiques et cliniques établis ci-dessus pour la maman plaident bien évidemment en faveur d'une manifestation de Dan par la même sous-espèce que sa maman, à savoir *T. b. gambiense*.

En dehors de la mise en évidence des trypanosomes dans le LCR de l'enfant, la cytorachie permet également de statuer biologiquement pour une phase II de la maladie avec 125 cellules/µL le 24 juin 2013 (Table XV) ce qui est bien supérieur aux 5 cellules/µL recommandées par l'OMS bien que ce seuil soit à prendre avec précaution chez Dan qui a un an comme nous l'avons évoqué plus haut(3)(71).

Dan reçoit le même traitement que Nadège pour la même durée. Il n'aura aucun effet secondaire et supporte mieux le traitement que sa mère. Le fait que les enfants supportent mieux le traitement que les adultes a été rapporté lors de l'utilisation du NECT qui est une combinaison de molécules contenant le DFMO(198). Cet état de fait est certainement extrapolable pour l'utilisation du DFMO en monothérapie comme cela avait été montré pour la prise en charge d'un cas pédiatrique français lors de la mise en place du produit(235).

L'évolution de Dan est suivie sur le plan clinique, biologique et parasitologique.

Le 15 juillet, à l'occasion de la seule PL réalisée chez Dan en post-thérapeutique, 3 jours après le fin du traitement, la recherche parasitaire est négative dans le LCR et la cytorachie est à 6 cellules/µL. Même si le seuil fixé par l'OMS n'est pas extrapolable aux enfants, qui ont une cytorachie normale supérieure aux adultes, comme nous l'avons vu plus haut, on peut estimer qu'elle a bien diminuée(71). Ces deux items permettent de voir la bonne évolution biologique de Dan.

Les dosages sériques de l'albumine et de l'hémoglobine sont, par ailleurs, les premiers à se normaliser (respectivement le 2 juillet 2013 et le 9 juillet 2013). La protidémie revient à la normale le 13 août 2013 et lorsqu'on étudie le profil des Ig, les IgA sont les seules à se normaliser le 2 juillet 2013, mais les IgM et les IgG sont en nette décroissance, surtout en ce qui concerne les IgM qui passent de 5 fois la normale le 3 juin 2013 à 1,7 fois la normale le 14 juillet 2013 (Tableau XXI).

La sérologie parasitaire se négative le 31 janvier 2014. La détection des Ac dans le LCR de Dan n'est pas renouvelée en post-thérapeutique mais elle était négative en pré-thérapeutique (Tableau XVIII). Le 15 juillet, sur la PL de contrôle de Dan, la protéinorachie est revenue à la normale (Tableau XXII). Ceci est autant de critères a ajouter à la bonne évolution biologique de Dan.

Les images d'IRM de Dan après traitement mettent en évidence une légère amélioration des lésions de la substance blanche et des noyaux gris centraux (Figure 42). Ceci concorde avec une amélioration lente des images cérébrales après traitement(223). D'ailleurs les IRM lors du suivi des patients traités pour une THA ne sont pas recommandées excepté si un symptôme neurologique survient. En ce qui concerne Dan

le retard global d'acquisition et les séquelles neurologiques rendent le suivi des atteintes cérébrales par IRM compréhensible.

Comme nous l'avons évoqué ci-dessus pour Nadège, le suivi thérapeutique n'est, en principe, pas conseillé sur ces trois derniers paramètres qui mettent du temps à se normaliser et ne sont donc pas de bons marqueurs de la guérison (I.D.3.c) (3). Dans notre cas, ils viennent pourtant apporter des arguments supplémentaires en faveur de la bonne efficacité du traitement.

Par ailleurs, l'évolution des marqueurs biologiques pronostiques de la maladie est particulièrement intéressante à suivre chez Dan.

D'une part, nous avons suivi les concentrations de plusieurs cytokines avant et après traitement (Tableau XXIV). La décroissance la plus marquée concerne le récepteur soluble à l'Il-2. Nous avons évoqué au chapitre I.A.2.c que les valeurs d'Il-2 diminuent lors des THA et qu'il en est de même pour l'expression de son récepteur transmembranaire(32). Aucune donnée, à notre connaissance, n'est disponible pour le récepteur soluble de cette cytokine et la décroissance spectaculaire observée chez Dan avant et après traitement est peut être une donnée intéressante à développer. On note, par ailleurs, une diminution du quart des valeurs de TNF-α avant et après traitement (Tableau XXIV) ce qui corrobore des données disponibles dans cette maladie pour ce marqueur(210). En ce qui concerne l'Il-6, cytokine qui serait un bon marqueur de phase et dont les concentrations pourraient donc être élevés dans les stades évolués, les valeurs initiales étaient basses chez Dan (Tableau XXIV) (157). Du fait des faibles concentrations initiales d'Il-6, la décroissance n'a pu être mise en évidence. Ce résultat sur l'Il-6 n'est donc pas concluant et serait en faveur de l'hypothèse que les formes aiguës permettent d'objectiver la différence mais pas les formes chroniques à *T. b. gambiense*(86).

D'autre part, tout comme pour Nadège, le suivi de l'activité de ce nouveau marqueur qu'est l'arginase avant et après traitement permet de voir une décroissance des concentrations. La valeur initiale, le 15 juillet 2013, est située dans la zone grise puis décroit de 1 UI/L en six mois soit le 31 janvier 2014. Comme nous l'avons développé dans le chapitre I.D.3.d.v, ce dosage reflète la pathogénicité de l'arginase qui diminue les défenses immunitaires de l'hôte et permet la survie du parasite chez l'hôte infecté(216). Chez Dan, la valeur initiale n'est pas très élevée mais une décroissance est tout de même visible comme pour chez Nadège. Un suivi sur une plus longue période est peut être souhaitable, mais comme ceux évoqués plus haut, ne va pas en faveur d'un marqueur sanguin rapide de guérison chez l'hôte infecté.

D'après les dernières informations que nous avons récupérés, Dan, à deux ans du traitement, garde un retard global des acquisitions. Il doit porter en permanence un corset et un verticalisateur, qui lui permet d'avoir la position adéquate afin d'interagir avec son entourage. Il est nourrit principalement par sa gastrostomie et doit faire l'objet d'une rééducation constante au niveau orthophonique et

psychomoteur. Cependant grâce à une prise en charge coordonnée des différents intervenants, lui et sa mère ont pu rentrer à domicile. C'est grâce à une évaluation régulière que les pédiatres pourront apprécier l'évolution au long court.

Conclusion

En étudiant les cas cliniques de Dan et Nadège AMB…, et en confrontant cette analyse aux données de la littérature, nous avons pu comprendre les difficultés que pose le diagnostic des THA, principalement en dehors des zones d'endémie africaine.

Les THA, à cause des tableaux cliniques peu spécifiques dont elles sont responsables, sont des gageures à dépister, principalement hors zone d'endémie. Ces maladies devraient rentrer dans les diagnostics différentiels à rechercher lorsque le contexte géographique le nécessite. Certains repères sont possibles. Il serait par exemple licite d'évoquer le diagnostic lors de symptômes neurologiques, surtout psychiatriques, ou d'état sommeilleux développés chez des sujets originaires ou ayant séjourné en zone d'endémie. On pourrait, en outre, proposer de rechercher les THA lors de diagnostics de leucodystrophie cérébrale dépistée à l'IRM chez des sujets revenant d'Afrique.

Ces démarches seraient d'autant plus facilitées actuellement compte tenu des avancées dans les techniques de diagnostic biologique que nous avons pu analyser ici. Ce sont autant d'armes permettant de simplifier les démarches avant l'instauration d'un traitement antiparasitaire. Il est en effet probable que, sous peu, les arbres diagnostiques classiques composés du dépistage sérologique, puis de la confirmation et de l'identification parasitaire et enfin de la stadification dans le LCR pourront se réduire à un simple test sensible, spécifique, coût-efficace et facile à interpréter.

De même, les nombreuses molécules encore en phase d'étude que nous avons citées ici devraient permettre de faciliter la thérapeutique, sans même la nécessité de différencier les deux sous-espèces.

L'OMS prévoit l'éradication des THA en 2030 grâce à l'évolution des outils diagnostiques et thérapeutiques.

Dans l'attente de la réalisation de cette prophétie optimiste, la sensibilisation du personnel de santé en zones d'endémie ou en dehors de celles-ci reste un enjeu essentiel.

1. Chiffres-cles | Centre National de Référence du Paludisme pour la France métropolitaine [Internet]. [cité 21 août 2015]. Disponible sur: http://www.cnrpalu-france.org/pages/chiffres-cles/?CAKEPHP=6d9964acbc7ab7f798380a77a77d0f1c

2. Médecine tropicale (6e éd.) GENTILINI Marc, CAUMES Eric, DANIS Martin, RICHARD-LENOBLE Dominique, BÉGUÉ Pierre, TOUZE Jean Etienne, KEROUEDAN Dominique [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 21 août 2015]. Disponible sur: http://www.lavoisier.fr/livre/medecine/medecine-tropicale-6e-ed/gentilini/descriptif-9782257203960

3. World Health Organization. Control and surveillance of human African trypanosomiasis. World Health Organ Tech Rep Ser. 2013;(984):1-237.

4. Steinmann P, Stone CM, Sutherland CS, Tanner M, Tediosi F. Contemporary and emerging strategies for eliminating human African trypanosomiasis due to Trypanosoma brucei gambiense: review. Trop Med Int Health TM IH. juin 2015;20(6):707-18.

5. Stijn Deborggraeve PB. Molecular diagnostics for sleeping sickness: what is the benefit for the patient? Lancet Infect Dis. 2010;10(6):433-9.

6. J Carrie AC. La trypanosomiase humaine à *TRYPANOSOMA (TRYPANOZOON) GAMBIENSE DUTTON* et ses vecteurs en Afrique occidentale et centrale. 1980;

7. Dutton Joseph Everett. Note on a Trypanosoma occurring in the blood of man. Br Med J. 1902;

8. Headrick DR. Sleeping Sickness Epidemics and Colonial Responses in East and Central Africa, 1900–1940. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 24 avr 2014 [cité 10 août 2015];8(4). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3998934/

9. WHO | WHO report on global surveillance of epidemic-prone infectious diseases [Internet]. WHO. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO_CDS_CSR_ISR_2000_1/en/

10. - Institut de recherche pour le développement (IRD) [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: https://en.ird.fr/

11. OMS | Organisation mondiale de la Santé [Internet]. WHO. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/fr/

12. L'UA en bref | Union Africaine [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.au.int/fr/about/nutshell

13. Bienvenue sur le site de PATTEC [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.pattec.bf/

14. Parasites & Vectors | Full text | The history of African trypanosomiasis [Internet]. [cité 27 août 2015]. Disponible sur: http://www.parasitesandvectors.com/content/1/1/3

15. Jamonneau V, Camara O, Ilboudo H, Peylhard M, Koffi M, Sakande H, et al. Accuracy of Individual Rapid Tests for Serodiagnosis of Gambiense Sleeping Sickness in West Africa.

PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2 févr 2015 [cité 2 août 2015];9(2). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4314185/

16. Franco JR, Simarro PP, Diarra A, Ruiz-Postigo JA, Jannin JG. The journey towards elimination of gambiense human African trypanosomiasis: not far, nor easy. Parasitology. mai 2014;141(6):748-60.

17. Pays E, Vanhollebeke B, Vanhamme L, Paturiaux-Hanocq F, Nolan DP, Pérez-Morga D. The trypanolytic factor of human serum. Nat Rev Microbiol. juin 2006;4(6):477-86.

18. Bio.an 6 Protozoaires [Internet]. [cité 8 juill 2015]. Disponible sur: http://www.vdsciences.com/pages/sciences-biologiques/biologie-animale/zoologie-descriptive/bio-animale6-protozoaires.html

19. Bagster IA, Parr CW. Trypanosome identification by electrophoresis of soluble enzymes. Nature. 10 août 1973;244(5415):364-6.

20. Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie, (ANOFEL). Trypanosomose Humaine Africaine (Maladie du sommeil). UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone; 2014.

21. Truc P, Cuny G. Apport de la biologie moléculaire à l'identification des trypanosomes responsables de la trypanosomiase humaine africaine ou maladie du sommeil. Médecine Trop. 2000;60(2):115-9.

22. Berberof M, Pérez-Morga D, Pays E. A receptor-like flagellar pocket glycoprotein specific to *Trypanosoma brucei gambiense.* Mol Biochem Parasitol. mars 2001;113(1):127-38.

23. Koffi M, De Meeûs T, Bucheton B, Solano P, Camara M, Kaba D, et al. Population genetics of *Trypanosoma brucei gambiense*, the agent of sleeping sickness in Western Africa. Proc Natl Acad Sci U S A. 6 janv 2009;106(1):209-14.

24. Guillaume V. Parasitologie sanguine. De Boeck; 2009. 200 p.

25. Stuart KD, Schnaufer A, Ernst NL, Panigrahi AK. Complex management: RNA editing in trypanosomes. Trends Biochem Sci. févr 2005;30(2):97-105.

26. Blood-Borne Protozoa [Internet]. [cité 18 juill 2015]. Disponible sur: http://www.microbiologybook.org/parasitology/blood-proto.htm

27. Stuart K, Brun R, Croft S, Fairlamb A, Gürtler RE, McKerrow J, et al. Kinetoplastids: related protozoan pathogens, different diseases. J Clin Invest. avr 2008;118(4):1301-10.

28. Van Meirvenne N, Magnus E, Buscher P. Evaluation of variant specific trypanolysis tests for serodiagnosis of human infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. Acta Trop. déc 1995;60(3):189-99.

29. McCulloch R, Morrison LJ, Hall JPJ. DNA Recombination Strategies During Antigenic Variation in the African Trypanosome. Microbiol Spectr. avr 2015;3(2).

30. ⚡Présentation « III- Les stratégies déchappement au système immunitaire 1- chez les pathogènes Les pathogènes ont développé des stratégies pour échapper à la réponse

immune. » [Internet]. [cité 18 juill 2015]. Disponible sur: http://slideplayer.fr/slide/179411/

31. Price HP, Hodgkinson MR, Curwen RS, MacLean LM, Brannigan JA, Carrington M, et al. The orthologue of Sjögren's syndrome nuclear autoantigen 1 (SSNA1) in *Trypanosoma brucei* is an immunogenic self-assembling molecule. PloS One. 2012;7(2):e31842.

32. Vincendeau P, Bouteille B. Immunology and immunopathology of African trypanosomiasis. An Acad Bras Ciênc. déc 2006;78(4):645-65.

33. Jordan AM. Tsetse-flies (Glossinidae). In: Lane DRP, Crosskey DRW, éditeurs. Medical Insects and Arachnids [Internet]. Springer Netherlands; 1993 [cité 8 juill 2015]. p. 333-88. Disponible sur: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-011-1554-4_9

34. Food and Agriculture Organization of the United Nations [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.fao.org/home/en/

35. A N O F E L [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://anofel.net/

36. Jamonneau V, Ravel S, Koffi M, Kaba D, Zeze DG, Ndri L, et al. Mixed infections of trypanosomes in tsetse and pigs and their epidemiological significance in a sleeping sickness focus of Côte d'Ivoire. Parasitology. déc 2004;129(Pt 6):693-702.

37. Farikou O, Njiokou F, Simo G, Asonganyi T, Cuny G, Geiger A. Tsetse fly blood meal modification and trypanosome identification in two sleeping sickness foci in the forest of southern Cameroon. Acta Trop. oct 2010;116(1):81-8.

38. CDC works 24/7 to protect US from health, safety and security threats. [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. [cité 18 juill 2015]. Disponible sur: http://www.cdc.gov/index.htm

39. Macleod ET, Darby AC, Maudlin I, Welburn SC. Factors Affecting Trypanosome Maturation in Tsetse Flies. PLoS ONE. 21 févr 2007;2(2):e239.

40. Peacock L, Ferris V, Sharma R, Sunter J, Bailey M, Carrington M, et al. Identification of the meiotic life cycle stage of *Trypanosoma brucei* in the tsetse fly. Proc Natl Acad Sci U S A. 1 mars 2011;108(9):3671-6.

41. Lindner AK, Priotto G. The Unknown Risk of Vertical Transmission in Sleeping Sickness—A Literature Review. PLoS Negl Trop Dis. 21 déc 2010;4(12):e783.

42. Herwaldt BL. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposures. Clin Microbiol Rev. oct 2001;14(4):659-88.

43. Anofel. PARASITOSES ET MYCOSES NP. 3e édition. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2014. 472 p.

44. Rocha G, Martins A, Gama G, Brandão F, Atouguia J. Possible cases of sexual and congenital transmission of sleeping sickness. Lancet Lond Engl. 17 janv 2004;363(9404):247.

45. Martin G, LeBoeuf A, Roubaud E. La maladie du sommeil au Congo Français, 1906-1908. Masson; 1909. 712 p.

46. Auregan, Duvallet. Un foyer de trypanosomiase humaine africaine sans glossine. Médecine tropicale. juill 1980;40(4):367-71.

47. OMS | 24 février 2006, vol. 81, 8 (pp 69–80) [Internet]. WHO. [cité 10 août 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/wer/2006/wer8108/fr/

48. OMS | Trypanosomiase humaine africaine (maladie du sommeil) [Internet]. WHO. [cité 10 août 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs259/fr/

49. Food and Agriculture Organization of the United Nations [Internet]. [cité 14 juill 2015]. Disponible sur: http://www.fao.org/home/en/

50. Simarro PP, Cecchi G, Paone M, Franco JR, Diarra A, Ruiz JA, et al. The Atlas of human African trypanosomiasis: a contribution to global mapping of neglected tropical diseases. Int J Health Geogr. 1 nov 2010;9(1):57.

51. Simarro PP, Diarra A, Ruiz Postigo JA, Franco JR, Jannin JG. The Human African Trypanosomiasis Control and Surveillance Programme of the World Health Organization 2000–2009: The Way Forward. PLoS Negl Trop Dis. 22 févr 2011;5(2):e1007.

52. C Cordon-Obras PB. *Trypanosoma brucei gambiense* in domestic livestock of Kogo and Mbini foci (Equatorial Guinea). Trop Med Amp Int Health TM Amp IH. 2009;14(5):535-41.

53. Simarro PP, Cecchi G, Franco JR, Paone M, Diarra A, Ruiz-Postigo JA, et al. Estimating and mapping the population at risk of sleeping sickness. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(10):e1859.

54. Tshimungu K, Kalambayi BB, Kiyombo M, Okenge LN, Mol PD. Connaissances, comportements, pratiques et croyances des habitants de Kinshasa (République Démocratique du Congo) face à la trypanosomose humaine. Cah Détudes Rech Francoph Santé. 1 mars 2008;18(3):141-7.

55. Grebaut P, Bodo JM, Assona A, Foumane Ngane V, Njiokou F, Ollivier G, et al. [Risk factors for human African trypanosomiasis in the Bipindi region of Cameroon]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. 2001;61(4-5):377-83.

56. Robays J, Ebeja Kadima A, Lutumba P, Miaka mia Bilenge C, Kande Betu Ku Mesu V, De Deken R, et al. Human African trypanosomiasis amongst urban residents in Kinshasa: a case-control study. Trop Med Int Health. 1 août 2004;9(8):869-75.

57. Kohagne TL, M'eyi MP, Kamkuimo RG, Kaba D, Louis JF, Mimpfoundi R. Transmission of human African trypanosomiasis in the Komo-Mondah focus, Gabon. Pan Afr Med J [Internet]. 1 avr 2011 [cité 8 juill 2015];8. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3201599/

58. Moore A, Richer M, Enrile M, Losio E, Roberts J, Levy D. Resurgence of sleeping sickness in Tambura County, Sudan. Am J Trop Med Hyg. août 1999;61(2):315-8.

59. Courtin F, Jamonneau V, Camara M, Camara O, Coulibaly B, Diarra A, et al. A geographical approach to identify sleeping sickness risk factors in a mangrove ecosystem: Epidemiology of sleeping sickness in mangrove. Trop Med Int Health. 9 juin

2010;15(8):881-9.

60. Courtin F, Dupont S, Zeze DG, Jamonneau V, Sané B, Coulibaly B, et al. Trypanosomose Humaine Africaine: transmission urbaine dans le foyer de Bonon (Côte d'Ivoire). Trop Med Int Health. 1 avr 2005;10(4):340-6.

61. Grébaut P, Bena J-M, Manzambi EZ, Mansinsa P, Khande V, Ollivier G, et al. Characterization of sleeping sickness transmission sites in rural and periurban areas of Kinshasa (République Démocratique du Congo). Vector Borne Zoonotic Dis Larchmt N. déc 2009;9(6):631-6.

62. LEGROS F, ANCELLE T, =Université Paris 6. Centre National de Référence de l'épidémiologie du paludisme d'importation et autochtone. Paris. FRA, =Institut de Recherche pour le Développement. (I.R.D.). Paris. FRA, =Chu Cochin. Laboratoire de Parasitologie-Mycologie. Paris. FRA, =Association des enseignants et des praticiens hospitaliers titulaires de parasitologie et mycologie médicale. FRA. Trypanosomiase humaine africaine : recensement des cas d'importation observés en France, 1980-2004. Bull Epidemiol Hebd. 14 févr 2006;(7):57-9.

63. Duggan AJ, Hutchinson MP. Sleeping sickness in Europeans: a review of 109 cases. J Trop Med Hyg. juin 1966;69(6):124-31.

64. Simarro PP, Franco JR, Cecchi G, Paone M, Diarra A, Ruiz Postigo JA, et al. Human African trypanosomiasis in non-endemic countries (2000-2010). J Travel Med. févr 2012;19(1):44-53.

65. team EC for DP and C (ECDC)-HCU-E editorial. Imported human African trypanosomiasis in Europe, 2005-2009 [Internet]. 2009 [cité 29 août 2015]. Disponible sur: http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19327

66. Checchi F, Filipe JAN, Haydon DT, Chandramohan D, Chappuis F. Estimates of the duration of the early and late stage of gambiense sleeping sickness. BMC Infect Dis. 2008;8:16.

67. Jamonneau V, Ilboudo H, Kaboré J, Kaba D, Koffi M, Solano P, et al. Untreated human infections by *Trypanosoma brucei gambiense* are not 100% fatal. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(6):e1691.

68. Odiit M, Kansiime F, Enyaru JC. Duration of symptoms and case fatality of sleeping sickness caused by *Trypanosoma brucei rhodesiense* in Tororo, Uganda. East Afr Med J. déc 1997;74(12):792-5.

69. Report of a WHO Expert Committee. Control and surveillance of African trypanosomiasis. genève: WHO Press; 1995. 237 p.

70. Mogk S, Meiwes A, Shtopel S, Schraermeyer U, Lazarus M, Kubata B, et al. Cyclical appearance of African trypanosomes in the cerebrospinal fluid: new insights in how trypanosomes enter the CNS. PloS One. 2014;9(3):e91372.

71. Buguet A. Bouteille B, Louis FJ, Buguet A. Trypanosomoses africaines : maladie du sommeil. EMC - Maladies infectieuses 2014;11(1):1-12 [Article 8-504-A-20]. EMC - Mal Infect. 2014;11(1):1-12.

72. Ginoux PY, Frezil JL, Alary JC. [Symptoms of human trypanosomiasis at the first diagnostic phase in the People Republic of Congo (author's transl)]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. juin 1982;42(3):281-7.

73. Blum JA, Schmid C, Burri C, Hatz C, Olson C, Fungula B, et al. Cardiac alterations in human African trypanosomiasis (*T.b. gambiense*) with respect to the disease stage and antiparasitic treatment. PLoS Negl Trop Dis. 2009;3(2):e383.

74. Poltera AA, Cox JN, Owor R. Pancarditis affecting the conducting system and all valves in human African trypanosomiasis. Br Heart J. août 1976;38(8):827-37.

75. Blum JA, Burri C, Hatz C, Kazumba L, Mangoni P, Zellweger MJ. Sleeping hearts: the role of the heart in sleeping sickness (human African trypanosomiasis). Trop Med Int Health TM IH. déc 2007;12(12):1422-32.

76. Buguet A, Chapotot F, Ngampo S, Bouteille B, Cespuglio R. Management of African trypanosomiasis of the CNS: polysomnography as a noninvasive staging tool. Future Neurol. 1 juill 2012;7(4):453-72.

77. Girard M, Giraud S, Courtioux B, Jauberteau-Marchan M-O, Bouteille B. Endothelial cell activation in the presence of African trypanosomes. Mol Biochem Parasitol. janv 2005;139(1):41-9.

78. Dauvilliers Y, Bisser S, Chapotot F, Vatunga G, Cespuglio R, Josenando T, et al. Hypocretin and Human African Trypanosomiasis. Sleep. 1 mars 2008;31(3):348-54.

79. Buguet A, Bisser S, Josenando T, Chapotot F, Cespuglio R. Sleep structure: a new diagnostic tool for stage determination in sleeping sickness. Acta Trop. janv 2005;93(1):107-17.

80. Mpandzou G, Cespuglio R, Ngampo S, Bandzouzi B, Bouteille B, Vincendeau P, et al. Polysomnography as a diagnosis and post-treatment follow-up tool in human African trypanosomiasis: a case study in an infant. J Neurol Sci. 15 juin 2011;305(1-2):112-5.

81. Blum JA, Schmid C, Hatz C, Kazumba L, Mangoni P, Rutishauser J, et al. Sleeping glands? - The role of endocrine disorders in sleeping sickness (*T.b. gambiense* Human African Trypanosomiasis). Acta Trop. oct 2007;104(1):16-24.

82. Boersma A, Noireau F, Hublart M, Boutignon F, Lemesre JL, Racadot A, et al. Gonadotropic axis and *Trypanosoma brucei gambiense* infection. Ann Société Belge Médecine Trop. juin 1989;69(2):127-35.

83. Soudan B, Tetaert D, Hublart M, Racadot A, Croix D, Boersma A. Experimental « chronic » African trypanosomiasis: endocrine dysfunctions generated by parasitic components released during the tryptanolytic phase in rats. Exp Clin Endocrinol. 1993;101(3):166-72.

84. Buguet A, Bourdon L, Bisser S, Chapotot F, Radomski MW, Dumas M. [Sleeping sickness: major disorders of circadian rhythm]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. 2001;61(4-5):328-39.

85. Lapeyssonnie L. [Second note on an exceptional case of trypanosomiasis. Blood parasites

seen for 21 years without appreciable clinical signs in a woman treated unsuccessfully during the first 10 years]. Bull Société Pathol Exot Ses Fil. févr 1960;53:28-32.

86. Ilboudo H, Bras-Gonçalves R, Camara M, Flori L, Camara O, Sakande H, et al. Unravelling Human Trypanotolerance: IL8 is Associated with Infection Control whereas IL10 and TNFα Are Associated with Subsequent Disease Development. PLoS Pathog. 6 nov 2014;10(11):e1004469.

87. Millogo A, Nacro B, Bonkoungou P, Sanou M, Traoré S, Traoré H, et al. [Sleeping sickness in children at Bobo-Dioulasso Hospital Center: apropos of 3 cases]. Bull Société Pathol Exot 1990. déc 1999;92(5):320-2.

88. Triolo N, Trova P, Fusco C, Le Bras J. [Report on l7 years of studies of human African trypanosomiasis caused by *T. gambiense* in children 0-6 years of age]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. sept 1985;45(3):251-7.

89. Urech K, Neumayr A, Blum J. Sleeping sickness in travelers - do they really sleep? PLoS Negl Trop Dis. nov 2011;5(11):e1358.

90. Checchi F, Chappuis F, Karunakara U, Priotto G, Chandramohan D. Accuracy of Five Algorithms to Diagnose Gambiense Human African Trypanosomiasis. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 5 juill 2011 [cité 2 août 2015];5(7). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3130008/

91. Oye EV, Peel E. Contribution à l'étude de la cellules mûriforme de Mott dans le liquide céphalorachidien des trypanosomés. Acta Trop. 1951;VIII(cahier 1):18-31.

92. Jamonneau V, Bucheton B, Kaboré J, Ilboudo H, Camara O, Courtin F, et al. Revisiting the immune trypanolysis test to optimise epidemiological surveillance and control of sleeping sickness in West Africa. PLoS Negl Trop Dis. 2010;4(12):e917.

93. Camara O, Camara M, Lejon V, Ilboudo H, Sakande H, Léno M, et al. Immune trypanolysis test with blood spotted on filter paper for epidemiological surveillance of sleeping sickness. Trop Med Int Health TM IH. juill 2014;19(7):828-31.

94. Magnus E, Van Meirvenne N, Vervoort T, Le Ray D, Wery M. Use of freeze-dried trypanosomes in the indirect fluorescent antibody test for the serodiagnosis of sleeping sickness. Ann Société Belge Médecine Trop. 1978;58(2):103-9.

95. Simarro PP, Franco JR, Ndongo P, Nguema E, Louis FJ, Jannin J. The elimination of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness in the focus of Luba, Bioko Island, Equatorial Guinea. Trop Med Int Health. 1 mai 2006;11(5):636-46.

96. Chappuis F, Loutan L, Simarro P, Lejon V, Büscher P. Options for Field Diagnosis of Human African Trypanosomiasis. Clin Microbiol Rev. janv 2005;18(1):133-46.

97. Noireau F, Lemesre JL, Nzoukoudi MY, Louembet MT, Gouteux JP, Frezil JL. Serodiagnosis of sleeping sickness in the Republic of the Congo: comparison of indirect immunofluorescent antibody test and card agglutination test. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1988;82(2):237-40.

98. Instituut voor Tropische Geneeskunde Antwerpen [Internet]. [cité 2 août 2015]. Disponible

sur: http://www.itg.be/itg/generalsite/Default.aspx?L=F&WPID=477&miid=636

99. Miller AR, Davis GL, Oden ZM, Razavi MR, Fateh A, Ghazanfari M, et al. Portable, Battery-Operated, Low-Cost, Bright Field and Fluorescence Microscope. PLoS ONE. 4 août 2010;5(8):e11890.

100. FOCUS [Internet]. [cité 4 août 2015]. Disponible sur: http://www.itg.be/internet/jaarverslag00/fr/focus-slaapziekte.htm

101. Edeghere H, Olise PO, Olatunde DS. Human African trypanosomiasis (sleeping sickness): new endemic foci in Bendel State, Nigeria. Trop Med Parasitol Off Organ Dtsch Tropenmedizinische Ges Dtsch Ges Für Tech Zusammenarbeit GTZ. mars 1989;40(1):16-20.

102. Enyaru JC, Matovu E, Akol M, Sebikali C, Kyambadde J, Schmidt C, et al. Parasitological detection of *Trypanosoma brucei gambiense* in serologically negative sleeping-sickness suspects from north-western Uganda. Ann Trop Med Parasitol. déc 1998;92(8):845-50.

103. Dukes P, Gibson WC, Gashumba JK, Hudson KM, Bromidge TJ, Kaukus A, et al. Absence of the LiTat 1.3 (CATT antigen) gene in *Trypanosoma brucei gambiense* stocks from Cameroon. Acta Trop. juin 1992;51(2):123-34.

104. Pansaerts R, Van Meirvenne N, Magnus E, Verhelst L. Increased sensitivity of the card agglutination test CATT/*Trypanosoma brucei gambiense* by inhibition of complement. Acta Trop. 30 juill 1998;70(3):349-54.

105. Magnus E, Lejon V, Bayon D, Buyse D, Simarro P, Verloo D, et al. Evaluation of an EDTA version of CATT/*Trypanosoma brucei gambiense* for serological screening of human blood samples. Acta Trop. janv 2002;81(1):7-12.

106. Miezan. Evaluation du Testryp CATT applique au sang preleve sur papier filtre et au sang dilue, dans le foyer de trypanosomiase a *Trypanosoma brucei gambiense* en Cote d'lvoire. Ulletin LOrganisation Mond Santé. 1991;69:603-6.

107. Truc P, Lejon V, Magnus E, Jamonneau V, Nangouma A, Verloo D, et al. Evaluation of the micro-CATT, CATT/*Trypanosoma brucei gambiense*, and LATEX/*T b gambiense* methods for serodiagnosis and surveillance of human African trypanosomiasis in West and Central Africa. Bull World Health Organ. 2002;80(11):882-6.

108. Chappuis F, Pittet A, Bovier PA, Adams K, Godineau V, Hwang SY, et al. Field evaluation of the CATT/*Trypanosoma brucei gambiense* on blood-impregnated filter papers for diagnosis of human African trypanosomiasis in southern Sudan. Trop Med Int Health TM IH. nov 2002;7(11):942-8.

109. newsletter.final.ENGLISH.THA12.pdf [Internet]. [cité 2 août 2015]. Disponible sur: http://www.dndi.org/images/stories/strengthening_capacities/newsletter.final.ENGLISH.THA12.pdf

110. HAT [Internet]. [cité 2 août 2015]. Disponible sur: http://www.standardia.com/fr/home/product/rapid/infectious-disease/HAT.html

111. Coris-HAT-K-SeT-Tb-gambiense-Detection.pdf [Internet]. [cité 2 août 2015]. Disponible

sur: http://www.corisbio.com/pdf/Products/Coris-HAT-K-SeT-Tb-gambiense-Detection.pdf

112. Vervoort T, Magnus E, Van Meirvenne N. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with variable antigen for serodiagnosis of *T. B. gambiense* trypanosomiasis. Ann Société Belge Médecine Trop. 1978;58(3):177-83.

113. Lejon V, Jamonneau V, Solano P, Atchade P, Mumba D, Nkoy N, et al. Detection of trypanosome-specific antibodies in saliva, towards non-invasive serological diagnosis of sleeping sickness. Trop Med Int Health. 1 mai 2006;11(5):620-7.

114. Van Nieuwenhove L, Büscher P, Balharbi F, Humbert M, Dieltjens T, Guisez Y, et al. Identification of mimotopes with diagnostic potential for *Trypanosoma brucei gambiense* variant surface glycoproteins using human antibody fractions. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(6):e1682.

115. Sullivan L, Wall SJ, Carrington M, Ferguson MAJ. Proteomic Selection of Immunodiagnostic Antigens for Human African Trypanosomiasis and Generation of a Prototype Lateral Flow Immunodiagnostic Device. PLoS Negl Trop Dis. 28 févr 2013;7(2):e2087.

116. Sternberg JM, Gierliński M, Biéler S, Ferguson MAJ, Ndung'u JM. Evaluation of the diagnostic accuracy of prototype rapid tests for human African trypanosomiasis. PLoS Negl Trop Dis. déc 2014;8(12):e3373.

117. Rogé S, Van Nieuwenhove L, Meul M, Heykers A, Brouwer de Koning A, Bebronne N, et al. Recombinant antigens expressed in Pichia pastoris for the diagnosis of sleeping sickness caused by *Trypanosoma brucei gambiense*. PLoS Negl Trop Dis. juill 2014;8(7):e3006.

118. Baral TN. Immunobiology of African Trypanosomes: Need of Alternative Interventions. BioMed Res Int. 23 févr 2010;2010:e389153.

119. Sullivan L, Fleming J, Sastry L, Mehlert A, Wall SJ, Ferguson MAJ. Identification of sVSG117 as an immunodiagnostic antigen and evaluation of a dual-antigen lateral flow test for the diagnosis of human African trypanosomiasis. PLoS Negl Trop Dis. juill 2014;8(7):e2976.

120. Moser DR, Cook GA, Ochs DE, Bailey CP, McKane MR, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* subspecies by DNA amplification using the polymerase chain reaction. Parasitology. août 1989;99 Pt 1:57-66.

121. Becker S, Franco JR, Simarro PP, Stich A, Abel PM, Steverding D. Real-time PCR for detection of *Trypanosoma brucei* in human blood samples. Diagn Microbiol Infect Dis. nov 2004;50(3):193-9.

122. Namangala B, Hachaambwa L, Kajino K, Mweene AS, Hayashida K, Simuunza M, et al. The use of Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) to detect the re-emerging Human African Trypanosomiasis (HAT) in the Luangwa and Zambezi valleys. Parasit Vectors. 4 déc 2012;5:282.

123. Njiru ZK, Constantine CC, Guya S, Crowther J, Kiragu JM, Thompson RCA, et al. The

use of ITS1 rDNA PCR in detecting pathogenic African trypanosomes. Parasitol Res. févr 2005;95(3):186-92.

124. Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res. 15 juin 2000;28(12):e63.

125. Radwanska M, Claes F, Magez S, Magnus E, Perez-Morga D, Pays E, et al. Novel primer sequences for polymerase chain reaction-based detection of *Trypanosoma brucei gambiense*. Am J Trop Med Hyg. sept 2002;67(3):289-95.

126. Mathieu-Daude F, Bicart-See A, Bosseno MF, Breniere SF, Tibayrenc M. Identification of *Trypanosoma brucei gambiense* group I by a specific kinetoplast DNA probe. Am J Trop Med Hyg. janv 1994;50(1):13-9.

127. Gibson W, Backhouse T, Griffiths A. The human serum resistance associated gene is ubiquitous and conserved in *Trypanosoma brucei rhodesiense* throughout East Africa. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. mai 2002;1(3):207-14.

128. Welburn SC, Picozzi K, Fèvre EM, Coleman PG, Odiit M, Carrington M, et al. Identification of human-infective trypanosomes in animal reservoir of sleeping sickness in Uganda by means of serum-resistance-associated (SRA) gene. Lancet Lond Engl. 15 déc 2001;358(9298):2017-9.

129. De Greef C, Imberechts H, Matthyssens G, Van Meirvenne N, Hamers R. A gene expressed only in serum-resistant variants of *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Mol Biochem Parasitol. sept 1989;36(2):169-76.

130. MORRISON LJ, McCORMACK G, SWEENEY L, LIKEUFACK ACL, TRUC P, TURNER CM, et al. THE USE OF MULTIPLE DISPLACEMENT AMPLIFICATION TO INCREASE THE DETECTION AND GENOTYPING OF *TRYPANOSOMA* SPECIES SAMPLES IMMOBILISED ON FTA FILTERS. Am J Trop Med Hyg. juin 2007;76(6):1132-7.

131. Deborggraeve S, Claes F, Laurent T, Mertens P, Leclipteux T, Dujardin JC, et al. Molecular dipstick test for diagnosis of sleeping sickness. J Clin Microbiol. août 2006;44(8):2884-9.

132. Claes F, Deborggraeve S, Verloo D, Mertens P, Crowther JR, Leclipteux T, et al. Validation of a PCR-Oligochromatography Test for Detection of *Trypanozoon* Parasites in a Multicenter Collaborative Trial. J Clin Microbiol. nov 2007;45(11):3785-7.

133. Mugasa CM, Adams ER, Boer KR, Dyserinck HC, Büscher P, Schallig HDHF, et al. Diagnostic accuracy of molecular amplification tests for human African trypanosomiasis--systematic review. PLoS Negl Trop Dis. janv 2012;6(1):e1438.

134. Picozzi K, Carrington M, Welburn SC. A multiplex PCR that discriminates between *Trypanosoma brucei brucei* and zoonotic *T. b. rhodesiense*. Exp Parasitol. janv 2008;118(1):41-6.

135. Lauri A, Mariani PO. Potentials and limitations of molecular diagnostic methods in food safety. Genes Nutr. mars 2009;4(1):1-12.

136. Mugasa CM, Schoone GJ, Ekangu RA, Lubega GW, Kager PA, Schallig HDFH. Detection of *Trypanosoma brucei* parasites in blood samples using real-time nucleic acid sequence-based amplification. Diagn Microbiol Infect Dis. août 2008;61(4):440-5.

137. Mugasa CM, Laurent T, Schoone GJ, Kager PA, Lubega GW, Schallig HDFH. Nucleic Acid Sequence-Based Amplification with Oligochromatography for Detection of *Trypanosoma brucei* in Clinical Samples. J Clin Microbiol. mars 2009;47(3):630-5.

138. K Njiru ASJM Z. African trypanosomiasis: Sensitive and rapid detection of the sub-genus *Trypanozoon* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) of parasite DNA. Int J Parasitol. 2008;38(5):589-99.

139. Wastling SL, Picozzi K, Kakembo ASL, Welburn SC. LAMP for Human African Trypanosomiasis: A Comparative Study of Detection Formats. PLoS Negl Trop Dis. 2 nov 2010;4(11):e865.

140. Harris E, Detmer J, Dungan J, Doua F, White T, Kolberg JA, et al. Detection of *Trypanosoma brucei* spp. in human blood by a nonradioactive branched DNA-based technique. J Clin Microbiol. oct 1996;34(10):2401-7.

141. Hamilton PB, Adams ER, Malele II, Gibson WC. A novel, high-throughput technique for species identification reveals a new species of tsetse-transmitted trypanosome related to the *Trypanosoma brucei* subgenus, *Trypanozoon*. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. janv 2008;8(1):26-33.

142. Radwanska M, Magez S, Perry-O'Keefe H, Stender H, Coull J, Sternberg JM, et al. Direct Detection and Identification of African Trypanosomes by Fluorescence In Situ Hybridization with Peptide Nucleic Acid Probes. J Clin Microbiol. nov 2002;40(11):4295-7.

143. Simarro PP, Louis FJ, Jannin J. [Sleeping sickness, forgotten illness: what are the consequences in the field?]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. 2003;63(3):231-5.

144. Duong TH, Richard-Lenoble D. Diagnostic des parasitoses à parasites sanguicoles. Rev Francoph Lab. févr 2008;2008(399):29-39.

145. Biéler S, Matovu E, Mitashi P, Ssewannyana E, Bi Shamamba SK, Bessell PR, et al. Improved detection of *Trypanosoma brucei* by lysis of red blood cells, concentration and LED fluorescence microscopy. Acta Trop. févr 2012;121(2):135-40.

146. Woo PTK, others. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop. 1970;27(4):384-6.

147. Sodipro - Centrifugeuse à hématocrite HAEMATOKRIT 210 [Internet]. [cité 4 août 2015]. Disponible sur: https://www.sodipro.fr/catalogue/fiche-mat.php?refart=3005791

148. Lejon V, Reiber H, Legros D, Djé N, Magnus E, Wouters I, et al. Intrathecal Immune Response Pattern for Improved Diagnosis of Central Nervous System Involvement in Trypanosomiasis. J Infect Dis. 5 janv 2003;187(9):1475-83.

149. Greenwood BM, Whittle HC. Cerebrospinal-fluid IgM in patients with sleeping-sickness. Lancet Lond Engl. 8 sept 1973;2(7828):525-7.

150. Mumba Ngoyi D, Menten J, Pyana PP, Büscher P, Lejon V. Stage determination in sleeping sickness: comparison of two cell counting and two parasite detection techniques. Trop Med Int Health TM IH. juin 2013;18(6):778-82.

151. Kennedy PGE. Diagnosing central nervous system trypanosomiasis: two stage or not to stage? Trans R Soc Trop Med Hyg. avr 2008;102(4):306-7.

152. Lejon V, Legros D, Richer M, Ruiz JA, Jamonneau V, Truc P, et al. IgM quantification in the cerebrospinal fluid of sleeping sickness patients by a latex card agglutination test. Trop Med Int Health. 1 août 2002;7(8):685-92.

153. Kristensson K, Nygård M, Bertini G, Bentivoglio M. African trypanosome infections of the nervous system: parasite entry and effects on sleep and synaptic functions. Prog Neurobiol. juin 2010;91(2):152-71.

154. Tiberti N, Hainard A, Lejon V, Courtioux B, Matovu E, Enyaru JC, et al. Cerebrospinal Fluid Neopterin as Marker of the Meningo-Encephalitic Stage of *Trypanosoma brucei gambiense* Sleeping Sickness. PLoS ONE. 18 juill 2012;7(7):e40909.

155. Abdulla M-H, Bakhiet M, Lejon V, Andersson J, McKerrow J, Al-Obeed O, et al. TLTF in Cerebrospinal Fluid for Detection and Staging of *T. b. gambiense* Infection. PLoS ONE [Internet]. 19 nov 2013 [cité 7 août 2015];8(11). Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3834137/

156. Sternberg JM, Mitchell JA. Plasma neuronal specific enolase: a potential stage diagnostic marker in human African trypanosomiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. juill 2014;108(7):449-52.

157. Kato CD, Alibu VP, Nanteza A, Mugasa CM, Matovu E. Interleukin (IL)-6 and IL-10 Are Up Regulated in Late Stage *Trypanosoma brucei rhodesiense* Sleeping Sickness. PLoS Negl Trop Dis. 19 juin 2015;9(6):e0003835.

158. Okomo-Assoumou MC, Daulouede S, Lemesre JL, N'Zila-Mouanda A, Vincendeau P. Correlation of high serum levels of tumor necrosis factor-alpha with disease severity in human African trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg. nov 1995;53(5):539-43.

159. Palmer JJ, Surur EI, Goch GW, Mayen MA, Lindner AK, Pittet A, et al. Syndromic algorithms for detection of gambiense human African trypanosomiasis in South Sudan. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(1):e2003.

160. Eperon G, Balasegaram M, Potet J, Mowbray C, Valverde O, Chappuis F. Treatment options for second-stage gambiense human African trypanosomiasis. Expert Rev Anti Infect Ther. nov 2014;12(11):1407-17.

161. Jacobs RT, Nare B, Phillips MA. State of the art in African trypanosome drug discovery. Curr Top Med Chem. 2011;11(10):1255-74.

162. Schmid C, Nkunku S, Merolle A, Vounatsou P, Burri C. Efficacy of 10-day melarsoprol schedule 2 years after treatment for late-stage gambiense sleeping sickness. Lancet Lond Engl. 28 sept 2004;364(9436):789-90.

163. Bisser S, N'Siesi F-X, Lejon V, Preux P-M, Van Nieuwenhove S, Miaka Mia Bilenge C, et al. Equivalence trial of melarsoprol and nifurtimox monotherapy and combination therapy

for the treatment of second-stage *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. J Infect Dis. 1 févr 2007;195(3):322-9.

164. Killer coma: the evolving story of sleeping sickness treatment [Internet]. [cité 25 juill 2015]. Disponible sur: about:reader?url=http%3A%2F%2Fwww.thelancet.com%2Fjournals%2Flancet%2Farticle%2FPIIS0140673610600293%2Ffulltext%3Frss%3Dyes

165. PubMed Central Link [Internet]. [cité 27 juill 2015]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2441931/

166. Barrett MP, Boykin DW, Brun R, Tidwell RR. Human African trypanosomiasis: pharmacological re-engagement with a neglected disease. Br J Pharmacol. déc 2007;152(8):1155-71.

167. Hawking F. Suramin: with special reference to onchocerciasis. Adv Pharmacol Chemother. 1978;15:289-322.

168. Collins JM, Klecker RW, Yarchoan R, Lane HC, Fauci AS, Redfield RR, et al. Clinical pharmacokinetics of suramin in patients with HTLV-III/LAV infection. J Clin Pharmacol. janv 1986;26(1):22-6.

169. Bronner U, Doua F, Ericsson O, Gustafsson LL, Miézan TW, Rais M, et al. Pentamidine concentrations in plasma, whole blood and cerebrospinal fluid during treatment of *Trypanosoma gambiense* infection in Côte d'Ivoire. Trans R Soc Trop Med Hyg. oct 1991;85(5):608-11.

170. Bronner U, Gustafsson LL, Doua F, Ericsson O, Miézan T, Rais M, et al. Pharmacokinetics and adverse reactions after a single dose of pentamidine in patients with *Trypanosoma gambiense* sleeping sickness. Br J Clin Pharmacol. mars 1995;39(3):289-95.

171. Waalkes TP, Denham C, DeVita VT. Pentamidine: clinical pharmacologic correlations in man and mice. Clin Pharmacol Ther. août 1970;11(4):505-12.

172. Berger BJ, Lombardy RJ, Marbury GD, Bell CA, Dykstra CC, Hall JE, et al. Metabolic N-hydroxylation of pentamidine in vitro. Antimicrob Agents Chemother. sept 1990;34(9):1678-84.

173. Cunningham ML, Zvelebil MJ, Fairlamb AH. Mechanism of inhibition of trypanothione reductase and glutathione reductase by trivalent organic arsenicals. Eur J Biochem FEBS. 1 avr 1994;221(1):285-95.

174. Burri C, Brun R. An in vitro bioassay for quantification of melarsoprol in serum and cerebrospinal fluid. Trop Med Parasitol Off Organ Dtsch Tropenmedizinische Ges Dtsch Ges Für Tech Zusammenarbeit GTZ. déc 1992;43(4):223-5.

175. Bronner U, Brun R, Doua F, Ericsson O, Burri C, Keiser J, et al. Discrepancy in plasma melarsoprol concentrations between HPLC and bioassay methods in patients with *T. gambiense* sleeping sickness indicates that melarsoprol is metabolized. Trop Med Int Health TM IH. nov 1998;3(11):913-7.

176. Burri C, Baltz T, Giroud C, Doua F, Welker HA, Brun R. Pharmacokinetic properties of

the trypanocidal drug melarsoprol. Chemotherapy. août 1993;39(4):225-34.

177. Cristau B, Placidi M. [Routes and kinetics of arsenic elimination in rats after administration of organoarsenic drugs. IV. Biliary excretion of melarsoprol, melarsonyl and related compounds]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. août 1972;32(4):477-82.

178. Pépin J, Milord F. The treatment of human African trypanosomiasis. Adv Parasitol. 1994;33:1-47.

179. Priotto G, Kasparian S, Ngouama D, Ghorashian S, Arnold U, Ghabri S, et al. Nifurtimox-Eflornithine Combination Therapy for Second-Stage *Trypanosoma brucei gambiense* Sleeping Sickness: A Randomized Clinical Trial in Congo. Clin Infect Dis. 12 janv 2007;45(11):1435-42.

180. Haegele KD, Alken RG, Grove J, Schechter PJ, Koch-Weser J. Kinetics of alpha-difluoromethylornithine: an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. Clin Pharmacol Ther. août 1981;30(2):210-7.

181. Milord F, Loko L, Ethier L, Mpia B, Pépin J. Eflornithine concentrations in serum and cerebrospinal fluid of 63 patients treated for *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. Trans R Soc Trop Med Hyg. août 1993;87(4):473-7.

182. Rodgers J, Jones A, Gibaud S, Bradley B, McCabe C, Barrett MP, et al. Melarsoprol Cyclodextrin Inclusion Complexes as Promising Oral Candidates for the Treatment of Human African Trypanosomiasis. PLoS Negl Trop Dis. 6 sept 2011;5(9):e1308.

183. Kotthaus J, Kotthaus J, Schade D, Schwering U, Hungeling H, Müller-Fielitz H, et al. New prodrugs of the antiprotozoal drug pentamidine. ChemMedChem. 9 déc 2011;6(12):2233-42.

184. Drugs for Neglected Diseases initiative [Internet]. Drugs for Neglected Diseases initiative. [cité 29 juill 2015]. Disponible sur: http://www.dndi.org

185. Kaiser M, Bray MA, Cal M, Trunz BB, Torreele E, Brun R. Antitrypanosomal Activity of Fexinidazole, a New Oral Nitroimidazole Drug Candidate for Treatment of Sleeping Sickness. Antimicrob Agents Chemother. 12 janv 2011;55(12):5602-8.

186. Sokolova AY, Wyllie S, Patterson S, Oza SL, Read KD, Fairlamb AH. Cross-resistance to nitro drugs and implications for treatment of human African trypanosomiasis. Antimicrob Agents Chemother. juill 2010;54(7):2893-900.

187. Dalla Rosa L, da Silva AS, Gressler LT, Oliveira CB, Dambrós MGC, Miletti LC, et al. Cordycepin (3'-deoxyadenosine) pentostatin (deoxycoformycin) combination treatment of mice experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. Parasitology. avr 2013;140(5):663-71.

188. Tang SC, Shapiro TA. Newly Identified Antibacterial Compounds Are Topoisomerase Poisons in African Trypanosomes. Antimicrob Agents Chemother. févr 2010;54(2):620-6.

189. Frearson JA, Brand S, McElroy SP, Cleghorn LAT, Smid O, Stojanovski L, et al. N-myristoyltransferase inhibitors as new leads to treat sleeping sickness. Nature. 1 avr 2010;464(7289):728-32.

190. Brand S, Norcross NR, Thompson S, Harrison JR, Smith VC, Robinson DA, et al. Lead optimization of a pyrazole sulfonamide series of *Trypanosoma brucei* N-myristoyltransferase inhibitors: identification and evaluation of CNS penetrant compounds as potential treatments for stage 2 human African trypanosomiasis. J Med Chem. 11 déc 2014;57(23):9855-69.

191. Brun R, Don R, Jacobs RT, Wang MZ, Barrett MP. Development of novel drugs for human African trypanosomiasis. Future Microbiol. juin 2011;6(6):677-91.

192. Oxaborole Phase I - DNDi [Internet]. [cité 29 juill 2015]. Disponible sur: http://www.dndi.org/media-centre/press-releases/1169-oxa-phasei.html

193. Jennings FW. Future prospects for the chemotherapy of human trypanosomiasis. 2. Combination chemotherapy and African trypanosomiasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. oct 1990;84(5):618-21.

194. Priotto G, Fogg C, Balasegaram M, Erphas O, Louga A, Checchi F, et al. Three drug combinations for late-stage *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness: a randomized clinical trial in Uganda. PLoS Clin Trials. 2006;1(8):e39.

195. Priotto G, Kasparian S, Mutombo W, Ngouama D, Ghorashian S, Arnold U, et al. Nifurtimox-eflornithine combination therapy for second-stage African *Trypanosoma brucei gambiense* trypanosomiasis: a multicentre, randomised, phase III, non-inferiority trial. The Lancet. juill 2009;374(9683):56-64.

196. Schmid C, Kuemmerle A, Blum J, Ghabri S, Kande V, Mutombo W, et al. In-hospital safety in field conditions of nifurtimox eflornithine combination therapy (NECT) for *T. b. gambiense* sleeping sickness. PLoS Negl Trop Dis. 2012;6(11):e1920.

197. Franco J, Pere S, Diarra, Ruiz-Postigo, Samo, Jannin. Monitoring the use of nifurtimox-eflornithine combination therapy (NECT) in the treatment of second stage gambiense human African trypanosomiasis. Res Rep Trop Med. août 2012;93.

198. Alirol E, Schrumpf D, Amici Heradi J, Riedel A, de Patoul C, Quere M, et al. Nifurtimox-eflornithine combination therapy for second-stage gambiense human African trypanosomiasis: Médecins Sans Frontières experience in the Democratic Republic of the Congo. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. janv 2013;56(2):195-203.

199. Control and surveillance of African trypanosomiasis. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser. 1998;881:I - VI, 1-114.

200. Barrett MP, Vincent IM, Burchmore RJS, Kazibwe AJN, Matovu E. Drug resistance in human African trypanosomiasis. Future Microbiol. sept 2011;6(9):1037-47.

201. WHO | WHO includes combination of eflornithine and nifurtimox in its Essential List of Medicines for the treatment of human African trypanosomiasis [Internet]. WHO. [cité 30 juill 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/neglected_diseases/disease_management/drug_combination/en/

202. Simarro PP, Franco J, Diarra A, Postigo JAR, Jannin J. Update on field use of the available drugs for the chemotherapy of human African trypanosomiasis. Parasitology. juin 2012;139(7):842-6.

203. Balasegaram M, Young H, Chappuis F, Priotto G, Raguenaud M-E, Checchi F. Effectiveness of melarsoprol and eflornithine as first-line regimens for gambiense sleeping sickness in nine Médecins Sans Frontières programmes. Trans R Soc Trop Med Hyg. mars 2009;103(3):280-90.

204. Chappuis F, Udayraj N, Stietenroth K, Meussen A, Bovier PA. Eflornithine is safer than melarsoprol for the treatment of second-stage *Trypanosoma brucei gambiense* human African trypanosomiasis. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 1 sept 2005;41(5):748-51.

205. Pépin J, Khonde N, Maiso F, Doua F, Jaffar S, Ngampo S, et al. Short-course eflornithine in Gambian trypanosomiasis: a multicentre randomized controlled trial. Bull World Health Organ. 2000;78(11):1284-95.

206. Schmid C, Richer M, Bilenge CMM, Josenando T, Chappuis F, Manthelot CR, et al. Effectiveness of a 10-day melarsoprol schedule for the treatment of late-stage human African trypanosomiasis: confirmation from a multinational study (IMPAMEL II). J Infect Dis. 1 juin 2005;191(11):1922-31.

207. Brun R, Schumacher R, Schmid C, Kunz C, Burri C. The phenomenon of treatment failures in Human African Trypanosomiasis. Trop Med Int Health TM IH. nov 2001;6(11):906-14.

208. Robays J, Nyamowala G, Sese C, Betu Ku Mesu Kande V, Lutumba P, Van der Veken W, et al. High failure rates of melarsoprol for sleeping sickness, Democratic Republic of Congo. Emerg Infect Dis. juin 2008;14(6):966-7.

209. Mumba Ngoyi D, Lejon V, Pyana P, Boelaert M, Ilunga M, Menten J, et al. How to Shorten Patient Follow-Up after Treatment for *Trypanosoma brucei gambiense* Sleeping Sickness. J Infect Dis. févr 2010;201(3):453-63.

210. MacLean L, Odiit M, Sternberg JM. Nitric Oxide and Cytokine Synthesis in Human African Trypanosomiasis. J Infect Dis. 15 oct 2001;184(8):1086-90.

211. Lejon V, Roger I, Ngoyi DM, Menten J, Robays J, N'Siesi FX, et al. Novel Markers for Treatment Outcome in Late-Stage *Trypanosoma brucei gambiense* Trypanosomiasis. Clin Infect Dis. 7 janv 2008;47(1):15-22.

212. Tiberti N, Lejon V, Hainard A, Courtioux B, Robin X, Turck N, et al. Neopterin Is a Cerebrospinal Fluid Marker for Treatment Outcome Evaluation in Patients Affected by *Trypanosoma brucei gambiense* Sleeping Sickness. PLoS Negl Trop Dis. 28 févr 2013;7(2):e2088.

213. Grohmann U, Bronte V. Control of immune response by amino acid metabolism. Immunol Rev. juill 2010;236:243-64.

214. Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. Br J Pharmacol. oct 2009;158(3):638-51.

215. Fairlamb AH, Cerami A. Metabolism and functions of trypanothione in the Kinetoplastida. Annu Rev Microbiol. 1992;46:695-729.

216. Nzoumbou-Boko R, Dethoua M, Gabriel F, Buguet A, Cespuglio R, Courtois P, et al. Serum Arginase, a Biomarker of Treatment Efficacy in Human African Trypanosomiasis. J Clin Microbiol. juill 2013;51(7):2379-81.

217. Declations-en-ligne | Centre National de Référence du Paludisme pour la France métropolitaine [Internet]. [cité 21 août 2015]. Disponible sur: http://www.cnrpalu-france.org/pages/declations-en-ligne/?CAKEPHP=34f0f756af6cd987bc26d488d613a2b3

218. Duvignaud A, Receveur M-C, Ezzedine K, Pistone T, Malvy D. Visceral leishmaniasis due to Leishmania infantum in a kidney transplant recipient living in France. Travel Med Infect Dis. févr 2015;13(1):115-6.

219. Simon I, Wissing KM, Del Marmol V, Antinori S, Remmelink M, Nilufer Broeders E, et al. Recurrent leishmaniasis in kidney transplant recipients: report of 2 cases and systematic review of the literature. Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc. août 2011;13(4):397-406.

220. Veroux M, Corona D, Giuffrida G, Cacopardo B, Sinagra N, Tallarita T, et al. Visceral leishmaniasis in the early post-transplant period after kidney transplantation: clinical features and therapeutic management. Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc. oct 2010;12(5):387-91.

221. Cevallos AM, Hernández R. Chagas' disease: pregnancy and congenital transmission. BioMed Res Int. 2014;2014:401864.

222. Truc P, Tiouchichine ML, Cuny G, Vatunga G, Josenando T, Simo G, et al. Multiple infections of *Trypanosoma brucei gambiense* in blood and cerebrospinal fluid of human African trypanosomosis patients from Angola: consequences on clinical course and treatment outcome. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. mars 2012;12(2):399-402.

223. Kager PA, Schipper HG, Stam J, Majoie CBLM. Magnetic resonance imaging findings in human African trypanosomiasis: a four-year follow-up study in a patient and review of the literature. Am J Trop Med Hyg. juin 2009;80(6):947-52.

224. Agence Nationale d'Accréditation et d'évaluation de la santé. Lecture critique de l'hémogramme : veleurs seuils à reconnaître comme probablement pathologiques et principales variations non pathologiques. Sérvice Réf Médicales [Internet]. sept 1997; Disponible sur: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/Hemogram.pdf

225. Lejon V, Boelaert M, Jannin J, Moore A, Büscher P. The challenge of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness diagnosis outside Africa. Lancet Infect Dis. déc 2003;3(12):804-8.

226. Morlais I, Grebaut P, Bodo JM, Djoha S, Cuny G, Herder S. Detection and identification of trypanosomes by polymerase chain reaction in wild tsetse flies in Cameroon. Acta Trop. 15 juin 1998;70(1):109-17.

227. Gustave Simo FN. Population genetic structure of Central African *Trypanosoma brucei gambiense* isolates using microsatellite DNA markers. Infect Genet Evol J Mol Epidemiol Evol Genet Infect Dis. 2009;10(1):68-76.

228. Solano P, Jamonneau V, N'Guessan P, N'Dri L, Dje NN, Miezan TW, et al. Comparison

of different DNA preparation protocols for PCR diagnosis of Human African Trypanosomosis in Côte d'Ivoire. Acta Trop. juin 2002;82(3):349-56.

229. Norman FF, López-Vélez R. Chagas Disease and Breast-feeding. Emerg Infect Dis. oct 2013;19(10):1561-6.

230. Sina G, Testa G, Triolo N, Trova P, Cramet B. [Some new cases of congenital human African trypanosomiasis (*T. gambiense*) (author's transl)]. Médecine Trop Rev Corps Santé Colon. févr 1979;39(1):57-63.

231. Buyst H. Pregnancy complications in Rhodesian sleeping sickness. East Afr Med J. janv 1973;50(1):19-21.

232. Kalanda K. A case of twin delivery of a mother suffering from trypanosomiasis in Kasongo (Zaire). Ann Société Belge Médecine Trop. mars 1991;71(1):67-8.

233. cofer (collège français des enseignants de rhumatologie). Cours immunoglobuline monoclonale [Internet]. [cité 31 août 2015]. Disponible sur: http://campus.cerimes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato19/site/html/5.html#5

234. Balasegaram manica, Chappuis françois, karunakara, Priotto G, Ruiz Postigo JA. Medecins Sans Frontieres: Sleeping Sickness - a practical manual for the treatment and control of human African trypanosomiasis. Médecin Sans Frontières. Paris; 2004;1-179.

235. Chandenier J, Benhamou PH, Malherbe T, Smail A, Pautard B, Delobel J. Quel est votre diagnostic ? Hyperprotidémie chez une enfant de 14 ans (à propos d'un cas de trypanosomiase africaine diagnostiqué à Amiens). concours médical. 1990;

Académie d'Orléans – Tours
Université François-Rabelais

Faculté de Médecine de TOURS

Lestrade-Carluer de Kyvon Marie-Alix

167 pages – 30 tableaux – 44 figures

Résumé :

Les trypanosomoses humaines africaines (THA) sont des maladies tropicales vectorielles des zones reculées d'Afrique sub-saharienne, transmises par la mouche tsé-tsé.

À Tours, deux cas de THA ont été diagnostiqués chez une réfugiée en France depuis quatre ans et présentant des troubles neurologiques, ainsi que chez son fils, né en France et présentant le même type de troubles. Le diagnostic a été posé fortuitement en examinant le liquide céphalorachidien de l'enfant ; ce qui a permis de suspecter une THA congénitale et de prendre en charge les deux patients.

À l'occasion de ce travail de thèse et afin d'étayer ces cas cliniques, nous avons souhaité faire un état des lieux de cette pathologie peu connue en France. Les aspects épidémiologiques et cliniques des deux entités que sont les THA chroniques de l'ouest africain et aiguës à l'est sont d'abord évoqués. Dans le cadre de notre DES de biologie médicale, nous nous attardons également sur les outils diagnostiques disponibles et en développement, dont les techniques de détection moléculaire et leur utilisation éventuelle dans des arbres diagnostiques adaptés au stade de la maladie et à la sous-espèce parasitaire en cause. Enfin, nous abordons les aspects thérapeutiques, tant ceux historiques ou de terrain que ceux concernant d'assez nombreuses molécules actuellement en développement.

Même si l'OMS prévoit l'éradication de la maladie du sommeil à brève échéance, en particulier grâce à l'évolution des outils diagnostiques et thérapeutiques tel que nous l'avons rappelée ici, l'absence de spécificité des symptômes et la rareté de la maladie hors des zones d'endémie doivent conduire à rester vigilant dans la pratique médicale en France.

Mots clés : Trypanosomose humaine africaine, maladie tropicale négligée, vecteur, mouche tsé-tsé, réfugié, troubles neurologiques, transmission congénitale, techniques biologiques, biologie moléculaire, épidémiologie, traitement, arbres diagnostiques.

Jury :

Président : Monsieur le Professeur Francis Barin, PU-PH, UFR Pharmacie, CHRU Tours

Membres : Monsieur le Professeur Louis Bernard, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours
Monsieur le Professeur Jacques Chandenier, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours
Monsieur le Professeur Alain Goudeau, PU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours
Madame le Docteur Zoha Maakaroun-Vermesse, PH, CHRU Tours
Monsieur le Docteur Guillaume Desoubeaux, MCU-PH, UFR Médecine, CHRU Tours

Date de la soutenance : mardi 6 octobre 2015