ÉDITIONS
UNIVERSITAIRES
EUROPÉENNES

Alain Buguet
Francis Louis
Bernard Bouteille

Diagnostic de la trypanosomose humaine africaine (maladie du sommeil)

Alain Buguet

Francis Louis

Bernard Bouteille

Diagnostic de la trypanosomose humaine africaine (maladie du sommeil)

Alain Buguet

Francis Louis

Bernard Bouteille

Diagnostic de la trypanosomose humaine africaine (maladie du sommeil)

Éditions universitaires européennes

Publisher : Éditions universitaires européennes is an imprint of the publishing house
Südwestdeutscher Verlag für Hochschulschriften GmbH & Co. KG
Dudweiler Landstr. 99, 66123 Saarbrücken, Germany
Phone +49 681 37 20 271-1, Fax +49 681 37 20 271-0
Email: info@editions-ue.com

ISBN : 978-613-1-56464-2

Copyright © 2011 by the author and Südwestdeutscher Verlag für Hochschulschriften GmbH & Co. KG and licensors
All rights reserved. Saarbrücken 2011

Table des matières

Intitulé	Page
Introduction	5
1. – L'évolution historique du diagnostic avant le 20e siècle	11
1.1. –Les descriptions cliniques de la maladie du sommeil	11
1.2. – Les premières descriptions anatomopathologiques	25
1.3. – Les différentes tentatives d'identification de la cause de la maladie du sommeil au 19e siècle	26
1.4. – La conception étiologique au début du 20e siècle - L'épopée scientifique des commissions de recherche sur la maladie du sommeil : la quête de la cause de la maladie	30
1.4.1. – La mise en cause des trypanosomes	30
1.4.2. - Le vecteur du nagana et de la maladie du sommeil : la mouche tsé-tsé ou glossine	39
1.4.3. – Conclusion sur l'évolution historique du diagnostic	42
2. – Le diagnostic clinique au 20e siècle	43
2.1. – Vers une classification conventionnelle de la maladie du sommeil en stades	44
2.1.1. - Rapports de la commission portugaise sur l'île de Principe et en Angola	44
2.1.2. - Classification de Hodges	47
2.1.3. - Classification de Dryepondt (1901)	49
2.1.4. – Broden et Rhodain	49
2.1.5. – La classification de Martin et Leboeuf (1908b ; 1909)	50
2.1.6. – La maladie chez les Blancs	55
2.2. – La conception clinique actuelle	56
2.2.1. – Lésion initiale, chancre ou trypanome	56
2.2.2. – La phase d'incubation	57

2.2.3. – Le stade lymphaticosanguin (stade 1) ou phase hémolymphatique	58
2.2.4. – Le stade méningo-encéphalitique (stade 2) ou phase de polarisation cérébrale	64
2.2.5. – Le stade terminal : l'encéphalite démyélinisante	75
2.2.6. – Les formes cliniques	75
2.2.7. – Importance relative des symptômes de la THA	76
3. – Le diagnostic biologique de la THA	77
3.1. – Le diagnostic de trypanosomose	79
3.1.1. – Les examens sérologiques	79
3.1.2. – La confirmation parasitologique	98
3.2. – Le diagnostic de stade	110
3.2.1. – Généralités	110
3.2.2. – Les techniques d'analyse du LCR	111
4. – Les méthodes d'exploration fonctionnelle neurologique	123
4.1. – Les aspects morphologiques de l'électroencéphalogramme	123
4.1.1. - L'électroencéphalogramme (EEG) d'éveil	123
4.1.2. - L'électroencéphalogramme de sommeil	124
4.1.3. – Les potentiels évoqués dans la THA	127
4.2. – L'étude du cycle veille-sommeil : la polysomnographie	128
4.2.1. – Utilisation de la polysomnographie dans la THA	128
4.2.2. – Le syndrome polysomnographique de la THA : mise en évidence	133
4.2.3. – Le syndrome polysomnographique comme outil diagnostique du stade évolutif	134
4.2.4. – Le syndrome polysomnographique comme outil non invasif du suivi post-thérapeutique et d'étude des séquelles neurologiques	137
4.2.5. – Conclusion sur la polysomnographie chez l'homme	138
5. – Les nouvelles pistes du diagnostic	139

5.1. – Les méthodes d'imagerie	139
5.2. – L'approche protéomique et métabolique	140
5.3. – L'approche génomique	141
5.4. – L'analyse des auto-anticorps	142
5.4.1. – Les auto-anticorps anti-galactocérébrosides et anti-neurofilaments	142
5.4.2. – Les auto-anticorps anti-tryptophane	143
5.4.3. – Les auto-anticorps anti-néoépitopes nitrosylés	143
5.5. – La mesure du monoxyde d'azote (NO) à l'état gazeux	143
5.5.1. – Généralités sur le NO	144
5.5.2. – La mesure du NO	144
5.5.3. – Les données obtenues chez l'animal et chez l'homme	145
5.5.4. – Conclusion sur le NO	147
6. – En guise de conclusion : les aspects pratiques sur le terrain	149
6.1. – Le déroulement d'une séance de dépistage hier comme aujourd'hui	149
6.2. – Les moyens mis en œuvre et leur succession temporelle	151
6.3. – Et à propos du suivi post-thérapeutique	154
Références	157
Livres consultés	207
Thèses et mémoires consultés	211

Introduction

« Je ne connais pas une publication spécifique sur l'histoire du diagnostic dans la trypanosomiase africaine. Les documents généraux sur l'histoire en parlent relativement peu. Ils sont plutôt concentrés sur les aspects de santé publique et la lutte ». Cette réflexion de Peter de Raadt dans un message courriel à Alain Buguet (communication personnelle, 26 septembre 2007) montre bien la nécessité de consacrer à la démarche diagnostique dans la maladie du sommeil un travail spécifique.

L'acquisition progressive des connaissances dans la trypanosomose humaine africaine (THA) ou maladie du sommeil (nélavane, Negro lethargy, hypnosie, somnolence, sleepy dropsy, sleeping distemper, sleeping sickness, Schlafkrankheit, etc.) permet de définir trois grandes périodes historiques quant aux aspects diagnostiques de la maladie : entre 1896 et 1906, surtout en Ouganda et dans le bassin du Congo ; en 1920 dans toute l'Afrique intertropicale ; à partir de 1970 jusqu'à aujourd'hui (Leder et Weller, 2007a). Le 19e siècle représente une période au cours de laquelle, faute de moyens d'étude de masse, on prend le temps d'examiner les malades individuellement. La maladie est alors plutôt sporadique. Mais, au tournant du siècle, elle va bientôt devenir épidémique et tuer au Congo et en Ouganda environ un million de personnes (Cox, 2004 ; Seed, 2001). Devant cette hécatombe, les autorités coloniales britanniques, portugaises, allemandes, belges et françaises envoient en Afrique des commissions d'étude de la maladie. En quelques dix années, l'agent causal (le trypanosome) et son vecteur (la glossine) sont identifiés et des traitements sont entrepris. Dès 1904, Laveran signale l'efficacité de l'acide arsénieux chez le rat infecté par *Trypanosoma gambiense*. La lutte contre la maladie s'organise rapidement. Au cours du 20e siècle, après la période « de recherche scientifique » qui va fournir des outils de diagnostic de masse, va se faire jour l'ère des épidémiologistes et du dépistage des populations. C'est, tout de suite après la Première Guerre Mondiale, l'avènement de la « méthode Jamot », dont les principes sont heureusement de nouveau en application depuis la résurgence de la maladie

survenue dans les années 1990. La clinique perd alors sa prééminence et les tests biologiques rapides s'imposent. La période « épidémiologique » va se terminer par la quasi disparition de la maladie à la fin des années 50 à 70. Cependant, pour de multiples raisons, les principales étant liées à l'instabilité politique et aux guerres locorégionales en Afrique (Dobson, 2001 ; Kaba et al., 2006), une nouvelle vague endémo-épidémique va frapper l'Afrique à la fin du 20e siècle.

En quelques années, la THA, resurgit au niveau des foyers historiques (Bouteille et Dumas, 1999). *Trypanosoma brucei* (*T. b.*) *gambiense* est responsable de l'épidémie (Fèvre et al., 2004). En 1999, Barrett juge la situation catastrophique. Les estimations varient en quelques années de 300 000 à 500 000 cas (WHO, 1998 ; WHO, 2001), avec moins de 5 % des 60 millions de personnes à risque sous surveillance active (Dobson, 2001). En certains endroits, on estime la mortalité à 50 pour 1 000 habitants (Molyneux, 2006).

Sous l'impulsion de l'Organisation mondiale de la santé, la communauté internationale, l'industrie pharmaceutique et les fondations et organisations non gouvernementales se mobilisent de nouveau contre cette maladie dont Jannin et al. (2003) font un « exemple remarquable de ce qu'est une maladie négligée ». Le retour à un processus d'élimination de la maladie semble être de nouveau d'actualité avec la mise en place de systèmes de surveillance épidémiologique et l'amélioration des moyens de détection de cas nouveaux et du traitement (Jannin, 2005). Les efforts entrepris semblent porter leurs fruits et la maladie serait de nouveau sous contrôle en 2006 (Barrett, 2006). La surveillance active est en effet passée de 1 825 529 individus en 1998 à 3 291 199 en 2004 (Anonyme, 2006). Les pays de la zone d'endémie à *T. b. gambiense* ont notifié à l'Organisation mondiale de la santé 12 756 cas en 1990, 37 385 en 1998, 17 036 en 2004 et 11 382 en 2006 (Anonyme, 2006 ; Steverding, 2006 ; Simarro et al., 2008).

Par ailleurs, les efforts des pouvoirs publics et de la communauté internationale sont motivés par les aspects économiques qui sous-tendent l'infection. Cependant, bien que dès le début du 20e siècle les autorités coloniales aient été conscientes de l'impact économique des trypanosomoses africaines, il fallut attendre les années 1970 pour

que cette conscience émerge sur une étude systématique de leur impact sur le développement de l'Afrique intertropicale (Shaw, 2004). La maladie se place au troisième rang des maladies parasitaires en Afrique sub-saharienne en terme de DALYs (disability-adjusted life years ou, en français, années de vie en incapacité ; Murray 1994 ; WHO, 2003) et de coût pour les familles en termes de dépenses et de perte de revenu, sans compter qu'il est difficile d'évaluer le coût des cas non déclarés ni celui des campagnes de dépistage dans des foyers reculés peu accessibles (Shaw, 2004). Lutumba et al. (2007b) estiment qu'un cas de THA en République démocratique du Congo obère environ 43 % du revenu annuel de la famille. Si le ratio du paludisme par rapport à la THA est de 178, il n'est que de 2 en termes de DALYs (Odiit, 2003). Par ailleurs, les trypanosomes africains, certes responsables de maladies de l'homme, provoquent également des maladies du bétail (Barrett et al., 2003). La trypanosomose animale, le nagana, coûterait annuellement à l'agriculture africaine environ 4,5 milliards de dollars US (Reinhardt, 2002). On estime en effet que dans les 7 millions de km² infestés par les glossines, 40 millions de têtes de bétail pourraient être élevées, correspondant annuellement à un déficit d'un demi-million de tonnes de viande et 1,6 millions de tonnes de lait.

Le traitement reste décevant, ne bénéficiant pas de nouvelles molécules, si ce n'est la brève aventure du DB289 (Ansede et al., 2004), retiré de la pharmacopée pour toxicité surtout rénale et qui n'était actif que pendant le premier stade de la maladie. Le médicament le plus utilisé, la pentamidine par voie intramusculaire, n'est pas exempt d'effets secondaires néfastes pouvant conduire à un taux de mortalité non négligeable (Jha et Sharma, 1984). Par ailleurs, la pentamidine n'agit pas sur le premier stade de la THA à *T. b. rhodesiense*. Elle est alors remplacée par la suramine qui, injectée par voie intraveineuse, nécessite de longues hospitalisations (Welburn et Odiit, 2002). Les médicaments du stade neurologique sont toxiques et/ou difficiles à administrer. Le mélarsoprol, un sel d'arsenic est utilisé depuis 1949 (Friedheim, 1949). Ce médicament est hautement toxique avec 2 à 10 % de mortalité au cours ou au décours immédiat du traitement, essentiellement à cause de l'encéphalopathie réactive dite arsenicale (Pépin et Milord, 1994 ; Inojosa et al., 2006). La modification

temporelle de l'administration du mélarsoprol ne fait pas reculer le risque d'accident (Schmid et al., 2004). Depuis 1986, l'éflornithine ou difluorométhylornithine (DFMO) a donné plus d'espoirs (Van Nieuwenhove, 1999). Mais elle est administrée en perfusions intraveineuses à raison de 6 perfusions par jour pendant 10 à 14 jours. Il s'agit donc d'un traitement complexe, qui n'est pas dénué de toxicité. Par ailleurs, le fait qu'elle soit plus trypanostatique que trypanolytique (Pépin et Milord, 1994) implique que son action ne puisse se faire que si le système immunitaire est pleinement fonctionnel (Wang, 1995). Elle ne peut donc pas être utilisée en cas de co-infection par le virus de l'immunodéficience humaine (de Gee et al., 1983 ; Bitonti et al., 1986). Depuis 2005, des recherches sur les bienfaits thérapeutiques de la combinaison éflornithine/nifurtimox se déroulent en République démocratique d Congo essentiellement. Le nifurtimox est utilisé avec succès dans la maladie de Chagas, trypanosomose américaine. L'espoir est grand de disposer d'un traitement efficace du stade neurologique avec l'avantage de pouvoir baisser les posologies de chacun des produits combinés (Barrett, 2010).

Le piétinement de la thérapeutique se fait en dépit de progrès remarquables dans la compréhension de la biologie de la THA (Seed, 2001). Au vu de la complexité du traitement et de la toxicité des médicaments utilisés au stade neurologique de la maladie, les examens de confirmation parasitologique de l'infection par le trypanosome restent nécessaires aujourd'hui comme hier (Todd, 1908 ; Kazyumba, 1989 ; Lutumba et al., 2005). Cependant, la résurgence de la maladie humaine et animale a relancé la recherche, redynamisant la quête de nouveaux outils appliqués au diagnostic et au suivi post-thérapeutique de la maladie du sommeil.

Le 19e siècle pourrait être qualifié de période clinique : la maladie du sommeil à symptomatologie purement neurologique est séparée de la fièvre dont on saura à la fin du siècle qu'elle est « à trypanosomes ». La deuxième période « de recherche » débute avec le 20e siècle par la découverte en quelques années de l'agent causal, le trypanosome, de ses relations avec son vecteur, la mouche tsé-tsé. La THA devient un continuum nosologique avec une phase d'invasion, une phase lymphaticosanguine et une phase neurologique. Les premières tentatives thérapeutiques avec les

arsenicaux sont alors mises en place. Sur le plan du diagnostic, les techniques conventionnelles d'identification de l'infection et de détermination de la phase évolutive sont décrites et rapidement mises en œuvre. Ces avancées techniques permettent la mise en place de l'étape de lutte et de prophylaxie contre la THA (Bertrand, 1965). La troisième période débute dans le dernier quart du 20e siècle par l'application de techniques modernes au diagnostic de l'infection. Cependant, le diagnostic de phase reste toujours un challenge. Un espoir réside dans le fait que les appels à contribution lancés par l'Organisation mondiale de la santé pour lutter contre les maladies négligées ont été entendus par des sponsors de plus en plus nombreux (O'Connell, 2007).

1. – L'évolution historique du diagnostic avant le 20e siècle

1.1. - Les descriptions cliniques de la maladie du sommeil

La première allusion historique aux mouches d'Afrique pourrait bien être rapportée par Esaïe (7, 18-19) « Il adviendra, en ce jour-là, que l'Éternel appellera par un coup de sifflet les mouches qui sont à l'extrémité des fleuves de l'Égypte et les abeilles d'Assyrie. Elles viendront et se poseront toutes dans les ravins abrupts, et dans les fentes des rochers, dans tous les fourrés broussailleux et tous les pâturages ». Cette imprécision se retrouve dans les narrations antérieures au 19e siècle rapportées dans la littérature de manière anecdotique. L'historien arabe **Ibn Khaldun** (1332-1406) rédige une œuvre monumentale, le *Kitab al-Ibar* (Livre des enseignements et traité d'histoire ancienne et moderne sur la geste des Arabes, des Persans, des Berbères et des souverains de leur temps). Dans la traduction des livres VI et VII que fit le baron de Slane (1927), l'auteur rapporte que le Mansa (roi des rois) Mari Diatta II (sacré en 1360), connu comme un despote régnant de Tombouctou sur l'Empire du Mali, « avait été frappé par la léthargie, une maladie qui affecte les habitants de ce climat… Ceux qui sont affectés ne sont pratiquement jamais éveillés ou alertes. Cette maladie affaiblit le patient et continue jusqu'à ce qu'il périsse… La maladie persista dans le corps de Diatta pendant deux ans après lesquels il mourut » (en 1374). De son côté, **Henri le Navigateur**, prince portugais qui déclencha l'expansion coloniale européenne, fit explorer les côtes d'Afrique par ses navigateurs. A sa mort en 1460, les navires portugais étaient descendus au sud du Sénégal, atteignant ce qui est aujourd'hui la Sierra Leone. Bovill (1929) rapporte la curieuse façon que les marchands arabes avaient alors de commercer avec les populations mandingues ou wangara du nord du Ghana actuel (the « silent trade »). Ils déposaient leurs marchandises, surtout le sel, au marché du village et retournaient à leur caravane. De leur côté, les Noirs déposaient l'or jusqu'à ce que les marchands aient jugé la quantité satisfaisante. Ramen attribue cette façon de faire à la peur de voir mourir leurs animaux de nagana ou d'être eux-mêmes victimes de maladie du sommeil.

En 1623, le Portugais **Aleixo de Abreu** décrit le mal de Loanda qui sévissait dans l'actuel Angola (Guerra, 1968). En 1734, **John Atkins**, chirurgien de la marine britannique, rapporte les maladies contractées par les Noirs de la côte du Golfe de Guinée dans ses « Observations on the coast of Guiney », publiées comme appendice de son livre « The Navy surgeon ». Il passe l'année 1722 à bord d'un navire stationné sur la côte d'Afrique équatoriale et décrit le climat chaud et humide qui ralentit les activités des Noirs comme des Blancs. Il a ainsi l'occasion d'observer ce que les Européens nomment localement le « sleepy distemper », une affection qui touche les esclaves noirs de façon commune. La condition débute sans signe prémonitoire, si ce n'est une augmentation de l'appétit deux à trois jours avant. Le sommeil est profond et les sensations sont amoindries. Ainsi, lorsque les patients sont stimulés violemment, voire battus, ils redeviennent insensibles dès l'arrêt des attaques, la bave coulant de leur bouche. La maladie affecte plus les jeunes et son pronostic est fatal. Si d'aventure un patient récupère, il perd sa raison et devient idiot. Atkins recherche les causes de cette somnolence mortelle (« deadly somnolence ») dans l'abondance extrême des humeurs extravasées dans le cerveau (« super-abundance of phlegm, or serum, extravased in the brain, which obstructs the irradiation of the nerves »), attribuée à l'immaturité de la jeunesse, au régime alimentaire (racines, fruits, légumes) et aux conditions de vie.

En 1803, **Thomas Winterbottom**, médecin missionnaire britannique, décrit une léthargie fatale qu'il observe chez les Africains de Sierra Leone, où il sert depuis 1792. Parmi les autres ethnies, les Soussou l'appellent « kee kollee kondee », les Mandé ou Mandingues « seenoyuncaree », c'est à dire « maladie du sommeil ». Elle est très fréquente dans le pays des Foulas. Au début, les malades ont un appétit ravageur, mais le perdent graduellement au cours de l'évolution. De petites tumeurs glandulaires sont parfois observées un peu avant le début des signes, bien que l'auteur en fasse plus une coïncidence qu'un symptôme lié à la maladie elle-même. Cependant, il signale que les marchands d'esclaves en font un symptôme indiquant une prédisposition à la léthargie. Ils n'achètent pas les sujets qui en sont porteurs ou se débarrassent d'eux rapidement. La disposition à dormir est si forte qu'elle laisse

peu de répit même pour se nourrir. Les autochtones n'ont pas de traitement sinon celui de faire transpirer abondamment le malade.

Entre 1808 et 1809, en Martinique, **Alexandre Moreau de Jonnès**, grand défenseur de la suppression de l'esclavage, avait constaté que la maladie sommeilleuse existait parmi les esclaves noirs importés de la côte d'Afrique (cité par Le Dantec, 1929).

Toujours en Sierra Léone, **Robert Clarke** (1840), un autre missionnaire britannique rapporte plusieurs cas d'hydropisie qui endort ou « sleepy dropsy », comme l'appellent les Noirs en raison des oedèmes qui l'accompagnent. La maladie se développe chez une personne à l'embonpoint considérable. Puis, l'appétit décline et le malade maigrit. Clarke décrit aussi les adénopathies cervicales (gonflement des glandes du cou). Mais le symptôme qui caractérise la maladie est un besoin irrésistible de se laisser aller au sommeil, qui frappe le malade même au moment où il porte les aliments à la bouche. Quelquefois, on observe des convulsions et du strabisme. Pour les Noirs du pays, lorsque la maladie a fait quelques progrès, ils n'essaient jamais de la guérir et abandonnent le malade comme étant incurable. A la fin de son mémoire, Clarke présente quatre cas chez qui il pratique une autopsie. Celle-ci révèle un développement très notable des vaisseaux qui passent entre la dure-mère et le cerveau, une injection rétiforme de la pie-mère et des sérosités dans les membranes (cas numéro 2), voire un piqueté rouge de la substance cérébrale. Les ventricules cérébraux contiennent beaucoup de sérosité (cas numéro 1).

Bien qu'elle ait été reprise par la Gazette médicale de Paris (Anonyme, 1843), la narration très précise de Clarke tombe dans l'oubli et il faut attendre 1861 pour que **Charles Dangaix**, chirurgien de la Marine impériale en poste au Gabon, qui n'est alors qu'un point d'appui français, soit le premier Français à décrire l'hypnosie ou maladie du sommeil chez trois malades. Il pense que la maladie est très anciennement présente du Gabon à Benguela. Elle touche plus les adultes de sexe masculin. Pour Dangaix, sa nature est plutôt nerveuse qu'inflammatoire, d'où le terme proposé d'hypnosie. La maladie serait plus liée au statut d'esclave chez les « princes noirs » qu'à la famine, au régime alimentaire, à l'hérédité ou encore à l'insolation, cette dernière étant jugée peu probable. L'hypnosie est incurable. Dangaix en donne pour

exemple l'anecdote suivante : « un négrier convaincu d'avoir en main le spécifique de cette maladie, il acheta à vil prix les esclaves atteints de sommeil, mais ce fut une bien mauvaise spéculation, car depuis cette époque, il a échoué dans tous les cas, et cela des centaines de fois ». Dangaix décrit trois périodes :

- Premier degré : le sommeil se prolonge longtemps, vient à des heures inaccoutumées ; on réveille le malade pour ses repas et alors il veille un peu.
- Deuxième degré : la maigreur se prononce, malgré un bon appétit. Les troubles de la marche et la faiblesse des membres s'installent.
- Troisième degré : la maigreur devient extrême, malgré un appétit persistant. La peau est sèche. Le sommeil est à peu près continu. Le malade s'éteint tranquillement, sans douleurs ni convulsions, au milieu d'un profond sommeil.

Les résultats des autopsies pratiquées par Dangaix sont contradictoires et fonction du temps écoulé depuis le décès. Elles donnent très peu de renseignement sur l'atteinte du système nerveux central. Cependant, l'existence d'une méningite est soulignée par **Dechambre** (1861) dans ses commentaires sur l'article de Dangaix.

En 1861 également, est publié le travail de **Nicolas**, chirurgien de la Marine impériale aux Antilles travaillant pour le service de l'immigration africaine, créé par décret impérial du 27 mars 1852 depuis l'abolition de l'esclavage en février 1848. Ses patients ont déclaré la maladie aux Antilles après le voyage depuis l'Afrique, la maladie n'existant pas chez les Noirs antillais. Pour Nicolas, la « somnolence » est caractérisée exclusivement par les « manifestations physiologiques du sommeil se prolongeant au-delà de ses limites normales ». Il pense que, « avant de chercher la nature du mal, il faut attendre que la physiologie ait découvert la nature du sommeil ». La maladie touche le sexe masculin, surtout les enfants. Elle débute par la chute des paupières et un besoin de dormir plus ou moins impérieux, qualifiés d'*accès* de sommeil. Les enfants résistent mieux à ces accès, surtout s'ils jouent. « Peu à peu les accès se rapprochent et se confondent ». « Bientôt (les patients) ne s'éveillent réellement plus,… dormant dans les positions les plus diverses ». Les autres signes sont l'amaigrissement, voire le marasme, la sécheresse de peau, l'œdème de la face, l'hébétude et l'indifférence. Nicolas souligne les troubles de la

thermorégulation, surtout à type d'hypothermie plutôt que d'hyperthermie. L'intelligence est conservée jusqu'à la fin, bien qu'elle soit plus « paresseuse ». Les troubles de la marche sont attribués à la somnolence. Il n'y a pas de signes sensitifs, sensoriels ou moteurs, pas de tremblements, pas de délire. La mort est inéluctable. « Ils s'éteignent ainsi progressivement, sans crises, sans douleur, et sans qu'on puisse saisir le passage du sommeil à la mort ». Nicolas pratique cinq autopsies et retrouve les données décrites antérieurement : deux cas avec ramollissement cérébral, quatre cas avec injections du cerveau et des méninges, un cas avec cerveau et méninges intacts. Ici encore, la méningite est donc présente. Pour Nicolas, « le pronostic de cette affection est aujourd'hui fort grave, et il est à craindre qu'il en soit longtemps de même ».

Encore en 1861, **Dutrouleau**, cité par Dutertre (1955) parle de la maladie du sommeil. En 1863, **Jules Carles**, dans sa thèse de médecine présentée à Montpellier, observe la maladie chez les Noirs du Congo candidats à l'émigration africaine au cours de ses quatre missions au Congo. Ces missions ont pour but d'engager des immigrants pour les colonies françaises d'Amérique afin de palier la pénurie de main d'œuvre agricole aux Antilles. Les tractations se font surtout à Mboma avec les princes noirs ; les captifs sont achetés à leurs maîtres, puis libérés. Sur le plan médical, Carles place la maladie du sommeil ou hypnosie « en première ligne ». Il donne un résumé d'un rapport fait par lui au Ministre de la marine en 1859. « Les malheureux atteints de l'affection se couchent et dorment, pas d'autres symptômes, l'émaciation arrive peu à peu, le marasme, la mort ». Il rapporte ensuite les travaux de Dangaix et disserte sur l'absence de renseignement fourni par les anciens médecins négriers, qu'il attribue à leur intérêt mercantile. Il divise, comme Dangaix, la maladie en trois périodes. Pour lui, la terminaison est toujours mortelle. Les deux autopsies qu'il pratique ne révèlent rien de particulier, tout comme celles de Dangaix (1861) et trois autres autopsies dont il a eu connaissance qui ont été réalisées par ses collègues au Gabon (Paul) et en Martinique (Hubac). Mais la maladie du sommeil reste « obscure » et il espère que son travail permettra à ses successeurs de mieux la comprendre.

Un an plus tard, **Griffon du Bellay** (1864 ; Anonyme, 1864) publie le rapport médical sur le service de l'Hôpital flottant La Caravane en rade du Gabon entre le 1er novembre 1861 et le 1er novembre 1863. Il y décrit deux cas de maladie du sommeil (un Sénégalais et un jeune homme du Congo), présentant les signes cliniques décrits par Nicolas (1861). L'autopsie montre aussi des signes de méningite et d'encéphalite.

En 1865, **Chassaniol**, chirurgien de première classe à l'hôpital Principal de Dakar (Sénégal) rapporte que les colons de Saint-Louis et de Gorée avaient de longue date constaté que chaque année un certain nombre d'esclaves étaient atteints de maladie du sommeil, qu'on nomme à Saint-Louis « maladie de Gorée ». Il rapporte le cas d'un mulâtre, premier cas non totalement africain décrit dans la littérature, qui, ayant contracté la maladie en Casamance, est mort à l'hôpital. Chassaniol, qui ne donne aucune précision sur l'examen clinique du malade, pratique une autopsie.

Un éditorial des Archives de médecine navale (Anonyme, 1868) rapporte le cas d'hypnosie décrit par **Santelli** dans son rapport sur le Service de santé au Gabon au quatrième trimestre de 1868. Il s'agit d'un malade Krooman (tribu originaire du Libéria) de 24 ans, homme libre, affecté par la maladie depuis déjà longtemps d'après ses camarades Kroomen. Le patient est en torpeur, le sommeil alternant avec la somnolence. Il s'assoupit souvent au milieu d'un repas. Plusieurs signes sont caractéristiques : faciès hébété, mutisme, bave aux lèvres, paupières mi-closes, faiblesse musculaire, tremblements, marche titubante, baisse de la température, pouls petit et lent, amaigrissement intense. La mort est calme, sans secousse. L'autopsie n'est pas réalisée, car elle est prohibée chez les Kroomen. Santelli insiste sur l'indifférence du malade pour ce qui l'entoure, mais aussi sur l'hypothermie qui est observée avant la phase terminale, la température corporelle pouvant chuter à 34 ou 35 °C.

En 1869, la thèse de médecine de **Guérin** à Paris, intitulée « De la maladie du sommeil », présente sept observations tirées des 148 immigrants africains examinés dans les propriétés de La Martinique ou à l'hôpital civil de Fort-de-France. Guérin décrit pour la première fois les attaques de sommeil.

- Cas 1 : il s'agit d'un ouvrier cordonnier Africain de 25 ans, en Martinique depuis 5 ans. Depuis 2 mois, il se plaint de tête lourde et d'un besoin de dormir, qui, au bout de quelques jours, survient même au travail « qui lui échappe ». Les paupières supérieures sont lourdes, tuméfiées, demi fermées, lui donnant un « air endormi ». L'appétit est conservé et les fonctions digestives sont bonnes. L'idéation est nette et spontanée. Le pouls à 70 est calme et régulier. Guérin décrit deux attaques de sommeil en position assise sur le bord du lit, les jambes pendantes : « Les paupières s'affaissent, la tête s'incline en avant, la face tournée vers le sol, le tronc se projette en avant et le sommeil devient profond ». Le sommeil de jour dure des heures et se prolonge par de la somnolence. Le sommeil nocturne est plus rafraîchissant, calmant les céphalées. Puis, les troubles disparaissent pendant quelques mois. Mais la somnolence et le sommeil au travail reviennent « avec la même violence impérieuse ». La marche devient chancelante, avec apparition de mouvements désordonnés des membres. La face est œdémateuse, la connaissance nulle. La mort survient « sans secousse, sans crise ». L'autopsie est pratiquée 6 heures après la mort : il n'y a pas d'inflammation des méninges, le liquide céphalorachidien (LCR) est limpide, le tissu cérébral est sain et de consistance ferme, la toile choroïdienne contient de nombreux vaisseaux dilatés, et on note une infiltration séreuse de l'arachnoïde pontique et bulbaire, le cervelet, le bulbe et la moelle cervicale étant sains (pas d'examen du reste de la moelle). Il n'y a pas d'altération des viscères thoraciques et abdominaux.
- Cas 2 : cet immigrant du Congo débarque en mai 1859 d'un convoi. Il présente une somnolence. Hospitalisé, il s'endort en mangeant, sa démarche est mal assurée, ses paupières sont lourdes. Quelques jours plus tard, des convulsions débutent pendant le sommeil. Il entre en coma avec une hémiplégie gauche et meurt. L'autopsie pratiquée 4 heures après la mort montre un LCR hémorragique, des méninges avec taches ecchymotiques, un caillot pariétal et un ramollissement cérébral en regard. Les autres parties du cerveau sont saines. La cavité thoraco-abdominale n'est pas ouverte.

- Cas 3 : un Africain de 19 ans immigré depuis 5 ans, ayant présenté 4 ans auparavant une congestion cérébrale et des convulsions avec céphalées résiduelles, est hospitalisé car les crises convulsives sont réapparues avec des accès de sommeil de courte durée au début, devenant plus longs par la suite. Il présente un œdème de la face et des paupières qui sont demi closes, une hébétude, des céphalées, avec un pouls à 70 bpm (battements par minute). La démarche est irrégulière. Le « sommeil le gagne dès qu'il a pris ses repas », débutant par « un relâchement général du système musculaire ». Le sommeil est profond. Puis, « la durée du sommeil augmente, les attaques se succèdent à de courts intervalles ; le malade s'endort pendant ses repas » ; il « s'assoupit assis ou debout ». Le décès survient sans secousse. L'autopsie 8 heures après la mort révèle des méninges non inflammatoires, avec des veines arachnoïdiennes dilatées, variqueuses. Le tissu cérébral est de consistance normale et le cervelet, le pont et le bulbe sont normaux.
- Cas 4 : né en Afrique, ce jeune homme de 15 ans, depuis 3 ans dans la colonie, est au service de Guérin. Il a « pris des habitudes créoles », paraissant triste, avec une allure paresseuse, une démarche et des mouvements lents. Il présente des accès de fièvre avec céphalées, vertiges, vomissements et diarrhée. Il perd ses forces, ne peut plus se lever. Hospitalisé, il a des accès de sommeil diurne. Puis en deux mois, il ne peut plus surmonter le besoin de dormir. Les accès deviennent fréquents surtout aux heures des repas. Les « paupières s'alourdissent et se ferment, sa tête s'incline, se porte en avant, et graduellement le tronc s'infléchit » ; « quelquefois ce sommeil est si rapide que sa bouchée n'a pas été avalée ». Puis les convulsions surviennent avec des crises de mouvements anormaux. L'autopsie pratiquée 4 heures après la mort montre une dure-mère avec sinus gorgés de sang, un cerveau de consistance normale, le tissu étant sain avec un piqueté modéré. Les vaisseaux choroïdiens sont turgescents.
- Cas 5 : une fille de 17 ans née en Afrique, à la Martinique depuis 4 ans, se « livrant aux excès vénériens » est hospitalisée pour gonorrhée. On s'aperçoit

alors qu'elle dort. Elle se plaint de légers vertiges et de céphalées et n'a pas de règles. En un mois, elle prend un faciès endormi avec paupières tombantes, présente des céphalées avec constriction des tempes qui précèdent le sommeil dont les attaques surviennent plusieurs fois par jour. La démarche est ébrieuse. La somnolence augmente, le sommeil survenant de jour et de nuit. La face est gonflée ; puis, la somnolence devient permanente et la patiente décède sans secousse. L'autopsie est pratiquée 8 heures après la mort : les méninges sont saines, les vaisseaux arachnoïdiens dilatés et le cerveau est consistant sans lésion.

- Cas 6 : il s'agit d'une jeune fille 20 ans née en Afrique dans la colonie depuis 7 ans. Elle est hospitalisée pour éclampsie après un accouchement laborieux, et souffre d'une chorée résiduelle. Plongée dans la tristesse, elle devient somnolente et présente un faciès endormi aux paupières en prolapsus. Les mouvements spasmodiques persistent pendant le sommeil diurne, bien qu'ils soient moins prononcés que pendant l'éveil, et s'arrêtent pendant le sommeil de nuit. Elle décède lors de convulsions.
- Cas 7 : cet Africain de 22 ans avec 2 mois de colonie est admis à l'hôpital pour céphalées et légère somnolence contre laquelle il lutte. Il guérit de cet état en un mois et n'est pas revu.

L'auteur conclut que l'hypnosie est une entité morbide produite par une congestion des méninges due à une prédisposition organique particulière dont le diagnostic est facile, le pronostic toujours grave et la thérapeutique inefficace. Ce travail est résumé par **Lasègue et Duplay** (1869) dans les Archives générales de médecine.

En 1876 et 1877 (1877a, 1877b), **Corre**, médecin de la Marine, rapporte ses recherches sur la maladie du sommeil. Corre (1877a) fait tout d'abord la narration de son voyage au Sénégal, dans la presqu'île de Joal et à l'embouchure de la Saumone. Joal compte 817 habitants et possède un poste de 14 militaires Européens. Puis, Corre décrit la nélavane des Wolofs ou dâdane des Sérères, ces deux mots signifiant « dormir ». Il rapproche cette maladie de l'hypnosie. Il donne les observations vues lors de son passage à Joal, ne rencontre pas le nélavane à Fadiouth, et voit deux

patients à M'Bodienne, où aurait sévi une épidémie de case décimant deux familles. Puis, il voit les gens de N'Dianda qui auraient quitté Nianing pour fuir le nélavane. Les deux observations présentées ne semblent pas correspondre au nélavane. L'enquête se porte ensuite sur le cercle de Portudal (737 habitants), considéré comme étant le véritable foyer du nélavane. Nianing, grand marché d'arachides, a été « balayé par la maladie » et n'existe encore qu'en raison de sa situation commerciale : « Waran et Portudal auront bientôt disparu ; M'Bour et N'Gaparou sont menacés de subir, avant quelques années, la ruine commune » ; à M'Bour, faute de victime à frapper le nélavane tend à devenir plus rare. Au village des Saracolais à Nianing, Corre rencontre de nombreux individus présentant les stigmates de la scrofule : maigreur, adénopathies cervicales avec cicatrices de cautérisation, lésions cutanées avec papules, vésicules, pustules, croûtes, céphalées, langueur, vertiges, signalés comme étant du nélavane au début. Au poste de Portudal, 8 Européens ont remplacé les Tirailleurs décimés par le nélavane. A N'Gaparou, le Chef indique que trois personnes viennent de mourir du nélavane et lui présente une quarantaine de malades. Aucun cas n'est vu à Saumone.

Puis, Corre (1877b) discute ses observations. Il décrit ensuite le nélavane, qui représente en fait un stade neurologique et qu'il identifie à l'hypnosie de Dangaix (1861) et Nicolas (1861). Il insiste sur les adénopathies : « plus d'une fois les médecins de la marine ont signalé le nombre considérable d'adénites cervicales et axillaires ». Beaucoup de malades font remonter le début de l'affection à une saison d'hivernage. La maladie débute par l'alanguissement et la somnolence, souvent par les céphalées et les vertiges. Il insiste sur la faiblesse des reins et des jambes, entraînant la baisse ou l'arrêt du travail. L'amaigrissement qui peut être extrême au moment de la mort. Les oedèmes (hydropisie) sont rares. La température corporelle semblant abaissée, les malades recherchent le soleil. Parfois, dans les cas graves, la température augmente le soir avec une accélération du pouls. La peau est sèche, furfuracée, avec des éruptions impétigineuses, dont l'auteur pense qu'elles entraînent le prurit. Les adénopathies cervicales ne sont pas constantes, ne dépassant pas la taille d'une lentille ou d'un haricot. Ce sont de petites masses indurées, roulantes, isolées

ou en chapelet. La fatigabilité est accrue et le sommeil devient irrésistible, survenant parfois brusquement au milieu du travail ou des divertissements. La somnolence devient plus fréquente, se prolonge ou est remplacée par une grande hébétude. L'auteur dit qu'elle n'est pas rigoureusement constante. Il décrit aussi des convulsions, des paralysies partielles allant jusqu'à l'incontinence, des contractures des sternomastoïdiens et des fléchisseurs des membres, une sensibilité plus ou moins émoussée avec anesthésies partielles, des fourmillements. Vers la fin, s'installe un tremblement de type choréïque généralisé ou localisé. Le « sens génital » est amoindri ou aboli. Les facultés intellectuelles sont amoindries, le caractère devenant morose, taciturne, avec mutisme et indifférence. Les appareils digestif et respiratoire sont normaux. Le pouls est souvent amoindri vers la fin. L'évolution de la maladie est lente et continue, avec des rémissions. Les gens de Gorée estiment que l'incubation peut durer jusqu'à 7 ans. Une fois déclarée, la maladie dure quelques mois à un ou deux ans. La mort est souvent hâtée par les escarres.

En 1881, **Bestion**, alors en poste au Gabon, publie un travail sur la géographie et la géographie humaine du Gabon. Il y indique, concernant la maladie du sommeil, que le 1er février 1879 il a reçu à l'hôpital un malade sénégalais atteint de maladie du sommeil. L'activité de ce domestique a baissé depuis environ 3 mois. Les forces sont diminuées, la marche lente et mal assurée, il présente des lésions cutanées croûteuses et souffre de céphalées, mais n'a pas d'adénopathie. Il demeure toute la journée sur son lit dormant la plupart du temps, indifférent à ses voisins de chambre. Bestion applique le traitement conseillé par Corre (1877a) : purgatifs, vésicatoires sur le crâne, cautérisations le long de la colonne vertébrale, douche sur la tête. Le malade va mieux, ne dort presque plus dans la journée. Il attribue l'amélioration au traitement et, plus vraisemblablement, à une rémission comme celles qui sont citées par Corre. A sa demande, le malade sort de l'hôpital et meurt trois semaines plus tard.

En 1883, un jeune médecin militaire français, **Abblart**, rapporte le cas d'un malade Africain qui est en complète léthargie lorsque le médecin l'examine. Il est à un stade très avancé. Les symptômes rappellent ceux décrits par Corre et reproduits dans son livre de 1887. Son profond endormissement fait penser au narcotisme de l'opium. Le

jeune médecin pratique une autopsie 12 heures après la mort. Hormis le cerveau, qui est hyperhémié avec des vaisseaux arachnoïdiens gorgés de sang, les autre organes sont normaux, conduisant à la conclusion que « le siège de la maladie est certainement dans les centres nerveux ».

Calmette (1888), alors Médecin de deuxième classe de la marine, présente le cas d'un malade engagé dans la compagnie des tirailleurs indigènes au Gabon. Le patient, présentant de gros boutons sur le cuir chevelu et deux plaques ulcérées avec pustules sur l'épaule gauche, se plaint de céphalalgies occipitales et de douleurs diverses au ventre, dans les lombes, et aux membres inférieurs. Le patient est fébrile (38-39 °C). Puis le patient entre dans une véritable torpeur, un infirmier le qualifiant de « dormeur ». Puis il entre en délire et présente des convulsions en opisthotonos. La fièvre tombe et le délire fait place à une stupeur encore plus profonde. La somnolence est presque continuelle. Trois mois plus tard, la somnolence s'est encore accentuée. En deux mois, il meurt après des convulsions. Comme le discute Calmette, « la période fébrile du début n'est signalée que dans un petit nombre de cas ». Selon les renseignements qu'il recueille au Gabon, « cette période serait très nettement marquée ».

Chez un jeune Noir de 22 ans né et élevé au Congo, **Stephen Mackenzie** (1890a ; 1890b) décrit la première observation précise des troubles du sommeil dans la maladie du sommeil. Le petit village d'où vient le malade se trouve dans une vallée à 1300 pieds au-dessus du niveau de la mer. La maladie du sommeil y a fait des ravages, emportant sa mère, deux de ses sœurs et presque tous ses parents. A part deux crises de paludisme, il a toujours été en bonne santé. La maladie a été précédée par une crise diarrhéique durant un mois en début d'année. Il est venu en Angleterre en juin pour se faire soigner. M. Grattan Guinness l'a introduit auprès de Mackenzie qui l'a hospitalisé un peu plus tard au London Hospital. Sur le plan psychique, il allait alors bien, il était vivace mais parfois enclin à être somnolent pendant la journée. Il présentait un léger ptôsis, lui donnant une expression lourde, dont « on dit qu'elle caractérise la maladie ». Il avait un eczéma de la jambe. Il fut mis à couper du bois, mais sa force musculaire s'est mise à diminuer. Il a commencé à marcher en

tremblant et en hésitant. Il avait des fasciculations de la langue et des tremblements des extrémités. Il présentait une hébétude et une léthargie croissantes. Le 5 octobre dans la soirée, il eut une sorte d'attaque qui le laissa inconscient avec de la fièvre, une sudation profuse et fut amené à l'hôpital le lendemain. Il était alors tremblant, marchant difficilement. Il dormait beaucoup dans la journée, mais s'éveillait avec tous ses esprits et son attention. Il n'était pas anémique. Les urines rares étaient concentrées, contenant des traces d'albumine à deux occasions, mais pas après. Le médecin pensant qu'il avait des filaires les trouva dans le sang. Depuis son hospitalisation, il avait maigri et perdu ses forces. Une fièvre irrégulière était présente, mais il gardait son appétit, sauf lors des pics fébriles. Les filaires étaient toujours présentes dans le sang, de jour comme de nuit. L'auteur décrit avec précision la perte du rythme nychthéméral de la veille et du sommeil, cet aspect étant repris dans le chapitre 3 (3.3.2.).

Forbes (1894) reprend ces descriptions sur la somnolence progressive, qui devient un sommeil profond et léthargique, révélé par la chute de la tête. Elle est accompagnée par le développement des ganglions lymphatiques du cou. Le patient tombe de plus en plus fréquemment en sommeil, dont les épisodes durent de plus en plus longtemps, jusqu'à ce qu'il dorme tout le temps, allant jusqu'à refuser de s'alimenter. L'amaigrissement s'installe et le malade meurt d'épuisement et de faim au bout de 3 à 12 mois.

En 1898, **Manson** fait le point sur la maladie du sommeil, profitant de deux observations faites sur deux jeunes Africains hospitalisés au Charing Cross Hospital, conduits du Bas Congo par Mr. Richards de la part du Dr. Grattan Guinness, missionnaire. La maladie du sommeil sévit entre le Sénégal et Luanda et s'étend au centre de l'Afrique équatoriale. Elle n'est pas partout endémique, mais réalise des « spots » de villages. La mortalité est élevée et, dans la zone de la congrégation des deux garçons, 40 personnes meurent de la maladie tous les ans sur une population de 1150. Les Européens sont aussi susceptibles d'être infectés que les Africains. La maladie peut être latente pendant des années, jusqu'à sept ans. Un jeune Congolais immigré en Angleterre aurait travaillé pendant 3 ans sans signes, puis serait mort de

maladie du sommeil. Les symptômes évoqués par Manson reprennent les signes généraux déjà décrits dans la littérature (adénopathies cervicales, œdème de la face, prurit, troubles thermiques) et les signes neurologiques (débilité musculaire, mouvements langoureux, fatigabilité même assis, faiblesse des genoux, tremblements musculaires, convulsions, contractures, mouvements choréïques) et psychiatriques (indifférence, morosité, asociabilité, réponse intelligible, épisodes maniaques, hallucinations, tendances homicidaires ou suicidaires). L'évolution se fait vers la mort, avec des rémissions temporaires. Mais Manson ne divise pas la maladie en phases évolutives. Il faudra attendre le tournant du siècle pour que l'évolution des connaissances scientifiques le permette et que la fièvre à trypanosomes soit considérée comme formant un continuum avec la maladie du sommeil.

En conclusion, la maladie du sommeil est au 19e siècle une maladie neurologique marquée par la somnolence, l'hébétude du faciès avec un ptôsis, les troubles de la marche et l'amaigrissement. Des signes plus généraux comme les adénopathies, les oedèmes de la face, les troubles thermiques y sont associés. Plusieurs tentatives de classification des symptômes évolutifs sont restées infructueuses sur le plan pratique, sans aucune incidence sur une attitude thérapeutique. Ainsi, Nielly (1881) propose deux périodes évolutives précédées de prodromes (mêmes signes que par la suite mais moins intenses), qui sont difficilement discernables par le lecteur. A la période d'état, le patient céphalalgique est hébété, les yeux saillants en ptôsis, sa marche est titubante, sa langue animée de fasciculations et son appétit est inégal. Il présente des épisodes de sommeil ou de somnolence diurne avec difficulté au réveil. Quelques malades, qui ne dorment pas, sont indifférents à leur environnement. La période d'aggravation est caractérisée par des épisodes de sommeil et de somnolence par accès plus longs et plus profonds. Les patients souffrent de paresthésies, de parésie et de contractures. La mort est la terminaison commune.

1.2. – Les premières descriptions anatomopathologiques

Sur le plan anatomopathologique, seules des observations macroscopiques ont été réalisées au 19e siècle. Ces descriptions indiquent une méningite cérébrospinale pour Clarke (1840), des signes de méningo-encéphalite pour Dangaix au Gabon (1861), une méningite pour Gaigneron et Lherminier en Guadeloupe (1864, cité par Nielly en 1881), une méningo-encéphalite pour Griffon du Bellay au Gabon (1864), une méningite, une arachnoïdite et une « congestion passive » de l'encéphale pour les 32 autopsies de Guérin en Martinique (1869) et une méningite dans un cas sur les deux autopsies de Corre au Sénégal (1877a). Chassaniol en 1865 décrit que le cerveau est œdématié, les ventricules latéraux contenant une sérosité limpide. Les méninges et la substance grise sont décolorées. Au Sénégal, Béranger-Féraud (cité par H. Rey en 1882 qui reproduit ses notes manuscrites dans son article Maladie du sommeil du Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratiques de Jaccoud, tome XXXIII ; Rey lui-même étant cité par Calmette, 1888), a constaté l'hyperémie du parenchyme cérébral avec un piqueté rouge au niveau des coupes de cerveau. Il observe aussi une augmentation du LCR et une couche albumino-purulente telle qu'on l'observe dans les méningites cérébrospinales. En 1888, chez un malade autopsié au Gabon, Calmette insiste sur les lésions des méninges, constatant à l'autopsie des signes de méningo-encéphalite, surtout du côté du cervelet, les lésions pie-mériennes s'étendant au bulbe et à la moelle. L'auteur conclue que la maladie du sommeil est vraisemblablement une leptoméningite chronique. Se fondant sur la comparaison entre l'hypnosie et l'ophtalmoplégie nucléaire faite par Edouard Blanc dans sa thèse « Le nerf moteur oculaire commun et ses paralysies, Delahaye et Lecrosnier, Paris, 1886 », Calmette rapproche, dans une note de bas de page, le tableau clinique de la maladie du sommeil d'un « processus anatomique … envahissant d'emblée les lames grises du quatrième, puis du troisième ventricule » pour « gagner les noyaux de la troisième ou l'un d'eux »

Bien que Corre (1887) considère que tout est à faire en anatomopathologie, les choses commencent à changer avec le début des travaux de Mott. Lors de la réunion de la Pathological Society of London du 17 octobre 1899 (Anonymous, 1899), Mott

présente des images (lanterne) recueillies chez deux patients de Manson (1898), dont il publie lui-même les données anatomopathologiques en décembre 1899. Les images sont obtenues au niveau du cerveau, de la moelle épinière, de l'hypophyse et des ganglions rachidiens colorés par la méthode de Nissl et de Marchi après durcissement et fixation, ainsi que d'autres organes et tissus. Chez le patient âgé de 20 ans, seul un épaississement de la pie-arachnoïde est décelé. Chez le garçon de 11 ans, la dure-mère adhère au crâne et le LCR est abondant. La pie-arachnoïde est très épaisse et opaque en regard des convolutions et à la base du cerveau. Les lymphatiques périvasculaires sont distendus par des leucocytes mononucléés, prédominant surtout dans l'hémisphère gauche du deuxième cas (en liaison avec les convulsions droites du patient). Le parenchyme cérébral est normal. Dans les deux cas, l'examen montre donc une leptoméningite et une encéphalomyélite. La recherche de micro-organismes est négative.

1.3. – Les différentes tentatives d'identification de la cause de la maladie du sommeil au 19e siècle

Au 19e siècle, les hypothèses les plus diverses ont eu cours quant à l'étiologie de la maladie du sommeil. Dangaix (1861) écarte la famine et le régime alimentaire de la liste des possibles coupables. Il pense que l'hérédité pourrait être impliquée et que le rôle de l'insolation n'est pas bien démontré. Il privilégie les causes morales liées au statut d'esclave chez les princes noirs des candidats au départ pour les colonies antillaises. Guérin (1869) pense que la maladie vient d'une prédisposition organique particulière. Pour Corre (1877a), ses origines sont obscures. Il disserte sur des similarités avec le béribéri. Talmy (Anonyme, 1880) pense que la maladie du sommeil « pourrait bien être une affection virulente », qu'elle a des analogies avec le choléra des poules, que les médecins en présence de maladie du sommeil devront vérifier l'état de santé des gallinacés. Il souligne aussi qu'il faut vérifier au Sénégal la santé des chevaux et des ânes, qui peuvent être atteints de maladie du sommeil dite nélavane, et qu'il faudrait étudier l'affection papulo-vésiculeuse du nélavane sur des modèles animaux. En 1887, Corre donne aux facteurs environnementaux un rôle

important à jouer. Sont ainsi mis en avant le climat pluvieux et chaud dans des zones marécageuses, la pauvreté des populations atteintes se livrant à l'alcool et aux excès génésiques, une alimentation pauvre quand manquent le riz et le mil, ou encore les eaux de boisson impures ou saumâtres. Corre réfute le rôle de l'insolation, qui n'est pas identique dans toutes les zones tropicales. Il croit à la contagion non pas par inoculation mais par contact, cette croyance conduisant à l'isolement des malades. Pour lui, l'hérédité semble être impliquée, car on peut « en observer les symptômes chez des enfants à la mamelle, nés de parents somnolents ». En 1888, Calmette propose un rapport entre la maladie du sommeil et la pellagre en rapprochant les lésions cutanées observées chez son patient d'un érythème pellagreux.

Mais Stephen Mackenzie, lors de sa présentation d'un cas de maladie du sommeil devant la Clinical Society of London le vendredi 14 novembre 1890, pense que toutes les théories avancées jusque là ne sont pas satisfaisantes. En particulier, l'association avec les filaires découvertes chez son patient africain de 22 ans ne représenterait pas la cause de la maladie. S'ensuit une discussion avec Patrick Manson, qui lui ne reconnaît pas le béribéri comme une cause possible, mais n'exclut pas la thèse de l'empoisonnement. Forbes (1894) est aussi d'avis que la présence de *Filaria sanguinis hominis* chez certains de ses malades n'est que fortuite. Pour lui, l'étiologie de la maladie du sommeil reste inconnue. La première suggestion est d'origine alimentaire. Mais le changement de régime alimentaire ne change rien à l'évolution de la maladie. La misère joue un rôle, mais le changement de résidence ne change rien non plus. Les trois raisons les plus plausibles sont : une condition septique soulignée par les adénopathies ; la présence de la filaire dans le sang comme le dit Manson ; une atteinte neurologique (une assomption de sa part), affectant le système neurotrophique et causant l'émaciation et la mort. Briquet (1898), Mongour puis Régis et Gaide la même année, à Tombouctou, évoquent une parenté entre maladie du sommeil et le myxoedème. Gaide, qui venait de passer sa thèse de doctorat en médecine sur le crétinisme en Savoie, voit en 1896 un malade somnolent, irritable et en misère physiologique et mentale à l'Infirmerie du poste de Goundan au Soudan français. Le patient lui fait penser à cette analogie, et il le traite sans succès par

« médication thyroïdienne » (la thyroïdine Flourens). Régis discute alors ce cas comme une méningo-encéphalite des maladies toxi-infectieuses graves. Cette hypothèse d'une atteinte thyroïdienne de type myxoedème devait encore être reprise en 1906 par Lorand, qui eut à Carlsbad à traiter un officier belge de l'Etat indépendant du Congo.

Pour Manson (1898), étudiant les deux patients hospitalisés dans son service à Londres, le germe de la maladie du sommeil est apparenté à celui de l'éléphantiasis, mais, à un stade de son existence il doit nécessairement vivre dans un hôte, animal ou plante, vivant dans les régions équatoriales de l'Afrique de l'Ouest. Lors de la réunion de la Pathological Society of London le 17 octobre 1899 (Anonymous, 1899), il se réfère à ces deux cas. *Filaria perstans* fut retrouvée dans le mésentère du premier patient, âgé de 20 ans, chez qui la maladie était apparue en octobre 1897. Chez le deuxième cas, chez qui la maladie a débuté en mai 1898, on retrouva un embryon de filaire dans le sang. Mais, Manson discute le fait que les Indiens de Demerara en Guyane britannique hébergent la filaire, ce qui pose le problème d'une condition morbide surajoutée dans la maladie du sommeil.

Bentley (1899), qui n'est ni médecin ni scientifique, mais qui a vécu dans l'Etat indépendant du Congo pendant plus de 19 ans, est d'avis que l'implication de *Filaria sanguinis hominis* de l'espèce diurne comme agent de la maladie par Manson est peu vraisemblable, de même que l'implication du manioc. Pour lui, la maladie est transmise par la salive, car les Africains boivent dans le même récipient, et il serait content si la salive des malades était étudiée. L'hypothèse d'une origine microbienne de la maladie intéresse de fait plusieurs auteurs. Cagigal et Lepierre (1898) trouvent un bacille chez un Angolais de 16 ans décédé de maladie du sommeil en état d'hypothermie (34,9 à 36,6 °C) et le nomment « bacille de la maladie du sommeil ». En 1899, Marchoux, repris par Arnaud (1899), rend le pneumocoque responsable de la maladie du sommeil. Il l'a en effet découvert chez deux patients de l'hôpital de Saint-Louis du Sénégal qui étaient également porteurs d'une infection pulmonaire. Broden, en 1901, décrit encore un bacille isolé du sang de malades ou du LCR après la mort. Ce bacille est voisin de celui de Cagigal et Lepierre (1898). Van den Corput

(1901) est en faveur de cette théorie bactérienne, parlant de toxinose du sommeil ou cathypnose, dans laquelle la maladie serait due à des toxines ponogènes (engendrant la fatigue). La théorie émise par ce dernier auteur est trouvée séduisante par Kuborn (1902), de l'Académie Royale de Médecine de Belgique, qui va jusqu'à affirmer que l'agent de la maladie du sommeil a été trouvé. Ces théories parasitaires (*Filaria perstans*) et microbienne ont été revues en juin 1902 par Roux, médecin militaire français. En mars 1903, après sa découverte du trypanosome dans le LCR de patients en novembre 1902, Castellani (1903a) publie un long article dans The Lancet sur la découverte d'un streptocoque, qu'il considère comme l'agent de la maladie du sommeil. Il l'a mis en évidence chez 9 des 11 patients examinés en *post-mortem*. Il l'a alors cultivé avec succès, ainsi que chez deux des trois patients chez qui il a prélevé du LCR de leur vivant, ne le trouvant qu'une seule fois dans le sang. Une semaine après la publication de Dutton, et quatre semaines après celle de Forde, le résumé du rapport de la Commission portugaise dans l'Ilha do Principe et la Province d'Angola paraît dans The Lancet le 27 septembre 1902 (Anonymous, 1902a). Il est toujours favorable à l'intervention du streptocoque, qui existe en grand nombre dans les vaisseaux de la pie-mère, du cerveau et de la moelle et dans les manchons lymphatiques des vaisseaux. Les auteurs pensent que la transmission a dû se faire à bord des bateaux en raison de l'insalubrité, la maladie se propageant parce que les Africains mangent ensemble, souvent dans le même récipient. Le 13 novembre 1902 (Anonymous, 1902c), Warrington présente des lésions anatomiques voisines de celles de Mott (1899) et les interprète comme étant en faveur d'une hypothèse toxique de la maladie.

Mais, déjà en 1898, Brault, commentant sur les maladies africaines suggère que la maladie du sommeil pourrait être associée à la présence de trypanosomes : « en raison de la marche si spéciale de la maladie et des localisations géographiques, je pencherais volontiers pour un parasite sanguicole dans le genre du « trypanosome » qui est probablement l'auteur des méfaits attribués à la mouche « tsé-tsé » ». En 1900, il étudie le bacille de Cagigal et Lepierre après avoir reçu de leur part une culture sur gélose obtenue à partir de prélèvements faits sur leur malade angolais

(Brault, 1900). Le bacille a la forme d'un bâtonnet de 3 à 4 µm de long, qui acquiert des formes plus longues sur sérum et sur gélatine. A l'observation en goutte suspendue, le bacille est très mobile. « Il traverse alors avec une grande rapidité le champ du microscope ondulant à la façon d'un vibrion ». Les inoculations à l'animal restent infructueuses.

La suggestion de Brault (1898) tombe dans l'oubli. Il faut attendre le début du 20e siècle pour que le trypanosome soit formellement impliqué dans la trypanosomose humaine africaine. Mais la controverse n'était pas finie et les échanges épistolaires dans des grands journaux comme The Lancet et le British Medical Journal en témoigneront encore pendant quelques années.

1.4. - La conception étiologique au début du 20e siècle - L'épopée scientifique des commissions de recherche sur la maladie du sommeil : la quête de la cause de la maladie

1.4.1. – La mise en cause des trypanosomes

Bien que l'évolution des trypanosomes remonte à quelques 500 millions d'années (Stevens et Gibson, 1999 ; de Raadt, 2005), les trypanosomes n'ont été observés qu'au 19e siècle, ayant été tout d'abord décrits chez l'animal. Dans leur traité classique de 1904 sur les trypanosomes et trypanosomiases, Laveran et Mesnil font remonter leur découverte à Valentin (1841), qui, à Berne, décrit le premier parasite du genre dans le sang de la truite *Salmo fario*. Simultanément à d'autres chercheurs (Gluge, de Bruxelles, Mayer, de Bonn) et trouvant des parasites similaires chez la grenouille, Gruby (1843), à Paris, leur donne le nom de *Trypanosoma* (τρψπανον, tarière et σωμα, corps). Jusqu'en 1878, ces travaux n'inspirent pas grand intérêt, jusqu'à ce que Lewis (1879) travaille sur les trypanosomes des rats de l'Inde. Le premier trypanosome pathogène n'est connu qu'en 1880, lorsqu'Evans décrit le trypanosome du surra des équidés et des camélidés de l'Inde.

La nature du « poison » transmis par la mouche tsé-tsé aux animaux, évoquée par Livingstone, devait être révélée par Bruce (1895). Avec sa femme Mary, il découvre

le trypanosome du nagana (mot zoulou faisant allusion à l'état de dépression et d'affaiblissement de l'animal) et le rend responsable de la maladie des équidés et des bovidés du Zoulouland. La totalité de ses travaux est publiée deux ans plus tard (Bruce, 1897). Pour permettre d'approfondir les recherches sur le nagana, Bruce envoie un chien infecté en Angleterre en novembre 1896. Le trypanosome du nagana ressemble à *Trypanosoma evansi*, agent du surra des Indes et de Birmanie. Il n'est pas confiné aux animaux domestiques mais aussi aux buffles et autres animaux sauvages. Les travaux de Bruce sont rapidement diffusés par la presse scientifique comme l'indiquent les écrits anonymes publiés par le Lancet (Anonymous, 1896), le British Medical Journal (Anonymous, 1897) ou encore Le Dantec dans son ouvrage sur les maladies des pays chauds et des pays froids (1929). Couronnant les travaux de Bruce, Plimmer et Bradford nomment le trypanosome du nagana *Trypanosoma brucei* en 1899, Laveran et Mesnil (1901) le nommant *Herpetomonas brucei*, puis reconnaissent l'appellation de *Trypanosoma brucei* (Laveran et Mesnil, 1902). Pour ces derniers auteurs, on doit à Bruce de savoir que le nagana, qui sévit dans les régions infectées par la mouche tsé-tsé, est transmis par ce diptère, qui n'est pas venimeux, mais inocule le mammifère sain avec un trypanosome prélevé sur un mammifère malade. Ils indiquent que la maladie atteint les équidés, les bovins, mais semble être ignorée des porcins et des chèvres, qu'elle peut être transmise expérimentalement à de nombreux autres animaux, notamment le lapin, le rat et la souris, mais que l'homme est résistant au nagana. Les auteurs poursuivent leur essai en comparant le nagana au surra de l'Inde, au Mal de Calderas et à la dourine d'Afrique du Nord. En 1902, Bruce reçoit des spécimens envoyés par Theiler du laboratoire de bactériologie du Bureau médical de la santé de Prétoria au Transvaal. Le trypanosome est trouvé uniquement chez le bétail et Bruce propose de le nommer *Trypanosoma theileri*. Suivent alors des études morphologiques nombreuses, qui explosent en 1904, avec le livre de Laveran et Mesnil, puis en 1912 avec sa réédition et les travaux portugais (Pittaluga, 1905). Elles se poursuivent encore aujourd'hui et s'amplifient jusqu'aux travaux actuels sur le génome du trypanosome (Melville, 1998 ; Melville, 2004 ; Berriman et al., 2005).

En 1892, un mois après sa publication de la découverte de l'hématozoaire du paludisme, Laveran écrivait une revue des connaissances sur les trypanosomes, indiquant que ces micro-organismes n'avaient jamais été trouvés chez l'homme. Pourtant, ce travail avait été précédé d'une publication sur la présence de flagellés dans le sang humain par Nepveu (1891) en Algérie. Nepveu écrit alors : « Jusqu'à aujourd'hui, les trypanosomes ont été trouvés uniquement chez l'animal en Inde (rat par Lewis ; surra du cheval), en Afrique (tsetse fly disease) et en Europe (rat, lapin, grenouille, oiseaux). Laveran dit que Barron a trouvé un protozoaire flagellé chez une femme anémique. En 1890, faisant des recherches sur le paludisme en Algérie, j'ai trouvé un flagellé chez un malade impaludé et publié des croquis (études sur les parasites du sang chez les paludiques, Bull. Mém. Soc. Biol, 21, 1891), espérant alors pouvoir compléter mes études par la suite. Mais je n'ai que rarement rencontré ce parasite. J'ai donc décidé de publier les faits suivants. Ce trypanosome présente toutes les caractéristiques du genre : forme générale, membrane incolore homogène, dont un des bords est plus fin, hyalin, et présente des mouvements ondulants caractéristiques. Cette membrane porte un noyau et un flagelle fin antérieur dont les ondulations se succèdent rapidement… J'ai trouvé ces trypanosomes chez seulement 6 patients impaludés souffrant de fièvre quotidienne (3 patients), de fièvre tierce double (1 patient) et de fièvre pernicieuse comateuse (2 patients). Le septième cas est celui d'un médecin en bonne santé. En conclusion, le trypanosome doit être classé parmi les parasites du sang humain ». Nepveu termine en disant que ses recherches sont trop incomplètes pour donner un nom à ce trypanosome. Encore une fois en 1898, Nepveu démontre la présence d'un trypanosome chez l'homme. Mais ses travaux restent sans écho. De fait, pour la communauté scientifique, la mise en évidence du rôle des trypanosomes dans la pathologie humaine commence au cours des trois premières années du 20e siècle.

En janvier 1902, Ross publie sur la réception d'une lettre de Dutton à propos d'un cas de trypanosome trouvé chez un Européen. Il se demande si le parasite ne s'approche pas de *T. brucei* ou de *T. lewisi*. En septembre 1901, Dutton (1902) effectuait des recherches sur les moustiques du paludisme à Bathurst en Gambie pour le compte de

la London School of Tropical Medicine. A la demande de Forde (1er septembre 1902), médecin colonial, il examine le sang d'un marin Anglais de 42 ans navigant sur la Gambie depuis six ans. Il trouve un protozoaire flagellé qu'il identifie comme appartenant au genre *Trypanosoma*. Le 10 mai 1901 (Forde, 1902), le malade avait été admis à l'hôpital de Bathurst pour un syndrome fébrile. Forde ne décela pas de *Plasmodium* dans le sang du patient, mais trouva des parasites en forme de vers très actifs. Le patient, évacué en Angleterre, fut hospitalisé au Royal Southern Hospital de Liverpool et suivi par le Dr. Macalister. Encore une fois, le sang ne montra pas de *Plasmodium*. Puis, le patient revint à Bathurst en décembre 1901, fatigué par le voyage et présentant de nouveau une hyperpyrexie. Le patient, alors revu par Forde (1902), est amaigri, souffre d'insomnies passagères et de faiblesse des jambes, présente un œdème de la face et des chevilles, ainsi que des zones érythémateuses sur le tronc et les cuisses. La température est irrégulière, ressemblant à celle des ânes ou des mulets atteints de surra ou de nagana. Du 15 au 27 décembre, les examens de sang prélevé au moment des pics fébriles montrent des parasites nombreux, qui disparaissent pendant les périodes normothermiques. Aucun *Plasmodium* n'est mis en évidence. L'examen à l'état frais sous une lamelle de ¾ de pouce révèle trois parasites du genre *Trypanosoma*. Le parasite se déplace rapidement à la manière d'une vis. Dutton observe un leucocyte phagocytant un parasite. Il pratique des étalements colorés selon la méthode de Romanowsky et établit que les parasites mesurent entre 18 et 25 µm de long et 2 µm de large. Le flagelle est connecté au centrosome décrit par Laveran et Mesnil (1902). Dans le but d'estimer la prévalence du paludisme, Dutton examine encore 115 lames de sang chez des enfants de un à 15 ans. Il trouve des trypanosomes chez l'un d'entre eux. A la demande de Dutton (1902), Laveran examine quelques unes de ces lames. Laveran lui fait savoir que les parasites diffèrent de *T. brucei* et qu'il les considère comme une nouvelle espèce. Dutton propose alors de la nommer *Trypanosoma gambiense*.

A son tour, Manson (Anonymous, 1902b), lors de la séance de la Pathological Society of London du 18 novembre, rapporte deux cas de trypanosomes survenant dans le sang de l'homme. Le premier cas est le Gambien de 20 ans que Dutton avait

fait venir en Angleterre. Il souffre d'une fièvre faible le jour, élevée la nuit et résistant à la quinine. L'anémie s'accompagne d'un érythème multiforme du tronc et des membres, d'une splénomégalie et d'une hépatomégalie. Le sang du patient contient des trypanosomes. Manson présente un deuxième cas. Il s'agit d'une Européenne (le premier cas chez un patient européen) ayant résidé dans l'Etat indépendant du Congo (Manson et Daniels, 1903). Elle est fébrile et présente un érythème multiforme, une splénomégalie et un œdème de la face. La première prise de sang ne révèle pas de trypanosomes, mais ils sont présents lors des examens suivants. Il s'agit bien là de deux fièvres à trypanosomes. La patiente est traitée par l'arsenic (arrhenal, sodium cacodylate, ou arséniate de fer) administré par voie sous-cutanée.

S'ensuit alors une polémique qui éclate dans la littérature médicale (Boyce et al., 1902 ; Baker et al., 1902 ; Sambon, 1902). En fait, la découverte du trypanosome dans le sang humain est due à Forde et Dutton, qui la publient dans les Thompson-Yates Laboratory Reports, Volume 4, fascicule 2, en mai 1902, puis dans le British Medical Journal le 20 septembre de la même année. Malgré les allégations de Boyce et al. (1902), le cas de l'Européenne présenté par Manson et Daniels (1903) n'est pas le deuxième cas de trypanosome chez un humain. Ce deuxième cas est l'enfant de 11 ans que Dutton a fait venir en Angleterre et qui est décédé peu après. Cependant, Maxwell-Adams (1903) affirme que le cas 77 décrit par Henny (Principles of Military Surgery, Third edition, 1829) est le premier cas décrit de maladie du sommeil chez un Blanc.

En mars 1903, Castellani (1903a) fait une revue des travaux précédents et des hypothèses soulevées par les différents auteurs. Il décrit alors un germe du groupe des streptocoques qu'il a mis en évidence chez 9 des 11 patients autopsiés. Il l'a alors cultivé avec succès, ainsi que chez deux des trois patients chez qui il a prélevé du LCR de leur vivant. Il s'agit d'un streptocoque. Un mois après avoir soutenu l'hypothèse du streptocoque, Castellani envoie un télégramme depuis Entebbe à la Royal Society of Tropical Medicine le 5 avril 1903. L'article correspondant est publié dans The Lancet (Castellani, 1903b). Il y décrit le premier trypanosome qu'il a trouvé le 12 novembre 1902 dans le LCR prélevé par ponction lombaire chez un patient

gravement atteint. Depuis, il a examiné 34 patients et 12 témoins qui n'hébergent pas le trypanosome. Il n'est pas facile de mettre les parasites en évidence et Castellani prélève 15 mL de LCR, rejetant les premiers mL qui tendent à contenir du sang. L'échantillon de 10 mL est centrifugé pendant 15 min. Il examine le sédiment et voit les trypanosomes actifs. Castellani établit une différence entre la fièvre à trypanosomes rapportée par Baker (1903) chez trois patients en Ouganda et Dutton et Todd (1903) chez 6 malades en Gambie et la maladie du sommeil avec signes neurologiques, qui ne « se ressemblent pas ». Pour lui, la maladie du sommeil est due au trypanosome qu'il a trouvé dans le LCR. Un autre télégramme est présenté à cette séance. Il est adressé, également depuis Entebbe, par le Colonel Bruce le 4 mai 1903 confirme la présence de trypanosomes dans le LCR de 38 malades de maladie du sommeil. Il a aussi trouvé des parasites dans le sang de 12 patients sur les 13 qu'il a prélevés. Le 20 juin 1903, Castellani (1903c) décrit en détail le trypanosome trouvé dans le LCR. Les divers aspects de la découverte sont repris dans le premier rapport de la commission en Ouganda publié en août (Castellani, 1903d).

En août 1903, Emile Brumpt (Anonymous, 1903a), de la mission de Bourg de Bozas, se demande toujours si, comme le disent Castellani et Bruce, la maladie du sommeil est due à un trypanosome ou à autre micro-organisme. Brumpt (Anonymous, 1903b), alors docteur ès sciences naturelles au laboratoire d'histoire naturelle de la faculté de médecine de Paris dirigé par le Pr. Blanchard, a été envoyé de la Somalie au Congo par l'Institut de médecine coloniale, créé à Paris par Blanchard. Lors de son passage au Congo (français et belge), il a examiné 37 cas, dont 28 avec ponction lombaire, 78 % présentant des trypanosomes dans le LCR.

Ces faits n'empêchent pas Manson de continuer à favoriser l'hypothèse de la filaire (Anonymous, 1903c ; Anonymous, 1904d), insistant sur le fait que le trypanosome de l'Africain n'est pas la cause de la maladie du sommeil (Manson, 1903a). Cependant, Low (Anonymous, 1903c) indique que Wiggins (1902) a déjà démontré qu'au Kavirondo (en Ouganda à l'est de Busoga), les autochtones ne sont pas porteurs de la filaire alors que la maladie du sommeil y est prévalente. Les travaux de Bruce et de Nabarro, membres de la commission sur la maladie du sommeil en Ouganda, se

poursuivent. L'hypothèse que la fièvre à trypanosomes et la maladie du sommeil sont dues à un même trypanosome est ainsi émise (Anonymous, 1903e). Cet éditorial indique aussi qu'une taxe d'habitation portant sur les cases a été instituée en Ouganda. Pour la payer, les villageois doivent gagner de l'argent et travailler loin de chez eux. Le Premier Ministre de l'Ouganda pense qu'il se pourrait que ces travailleurs migrants soient responsables de l'extension de la maladie en dehors des zones infectées.

Rentrés de Gambie depuis deux semaines et déjà partis pour l'Etat indépendant du Congo à la demande du Roi des Belges, Dutton et Todd (1903) ont trouvé des trypanosomes dans le sang d'Africains et dans celui de chevaux malades. Ils inoculent ces parasites à divers animaux et concluent que la maladie du cheval et celle de l'homme sont dues à deux parasites différents. La chèvre et le cynocéphale sont résistants aux deux maladies.

Le premier rapport de la commission sur la maladie du sommeil en Ouganda (1903) indique que l'infection filarienne est une coïncidence. La cause semble entendue. Brumpt et Wurtz (1903) sont persuadés que le trypanosome de Castellani est la cause de la maladie du sommeil.

Les luttes entre auteurs pour savoir qui a la prééminence de la découverte de l'agent causal de la « trypanosomiase » se retrouvent encore dans les journaux médicaux et scientifiques. Stephens (1903) fait un plaidoyer pour le respect des règles de nomenclature de nouvelles espèces. Ainsi, *Trypanosoma gambiense*, premier nom donné par Dutton à l'agent de la maladie du sommeil, doit être préféré à toutes les autres appellations subséquemment attribuées au parasite : *T. hominis*, *T. nepveu*, *T. ugandense*, *T. castellanii*. C'est aussi l'avis de Laveran (Anonymous, 1904c) qui, de plus, demande d'abandonner le nom de « maladie du sommeil » pour celui de « trypanosomiase humaine ». Castellani (1903e) défend la paternité de sa découverte contre les autres membres de la commission en Ouganda, notamment le Colonel Bruce. De son côté, Habershon (1903) affirme qu'il a adressé lui-même à Manson la malade qui constitue son deuxième cas de trypanosomose. Lors de la réunion de l'Epidemiological Society du 11 décembre 1903, Sambon (Anonymous, 1903f)

indique que dès que Castellani a eu découvert un trypanosome dans la maladie du sommeil, l'idée d'une mouche vecteur a émergé chez ceux qui connaissaient la maladie à trypanosomes, les premiers à publier sur le sujet étant Brumpt et lui-même. Par ailleurs, la femme blanche atteinte de fièvre à trypanosomes a fini sa vie dans un tableau de maladie du sommeil, prouvant ainsi que la fièvre à trypanosomes n'est que le premier stade de la maladie du sommeil et qu'un trypanosome en est la cause (Manson, 1903b). Mais, encore une fois, Manson, lors de la réunion, prend la parole pour critiquer longuement les travaux conduits en Ouganda, n'admettant à aucun moment la théorie du trypanosome ni la liaison entre polyadénite et maladie du sommeil. Malgré les dénégations de Manson, Brumpt intervient alors en français. Il croit à l'absolue relation de cause à effet entre la présence de trypanosomes et les symptômes de la maladie du sommeil. Un article anonyme de Lancet (Anonymous, 1904a) propose la mise au point suivante. On doit à Castellani la démonstration de la présence de trypanosomes dans le LCR dans la maladie du sommeil ainsi que l'introduction de la méthode de centrifugation du LCR. On doit à Bruce la théorie selon laquelle le trypanosome pourrait causer la maladie. Egalement, le fait que la maladie peut être transmise par inoculation à des singes. La distribution de la maladie du sommeil correspond par ailleurs à celle de la *Glossina palpalis*. On doit à Dutton la découverte du trypanosome dans le sang des malades en 1901.

La publication des dernières données de la commission d'Ouganda dans son rapport complémentaire (Anonymous, 1903g) présente des conclusions très claires. La maladie du sommeil est causée par l'entrée dans le sang et le LCR d'une espèce de trypanosome ;

- cette espèce est probablement la même que *Trypanosoma gambiense* découvert par Forde et décrit par Dutton sur la côte ouest de l'Afrique ;
- les cas de fièvre à trypanosomes décrits sur la côte ouest sont probablement des cas de maladie du sommeil au tout début ;
- les singes sont susceptibles de contracter la maladie du sommeil, montrent les mêmes symptômes et suivent la même évolution, que le trypanosome injecté

provienne du sang de cas de fièvre à trypanosomes ou du LCR de cas de maladie du sommeil.

- les trypanosomes sont transmis du malade au sujet sain uniquement par l'intermédiaire d'une mouche tsé-tsé, *Glossina palpalis* ;
- la maladie du sommeil est en fait une maladie humaine due à la mouche tsé-tsé.

Ces résultats sont confortés par les travaux de la mission de Dutton, Todd et Christy dans l'Etat indépendant du Congo (Dutton et al., 1904). La « simple trypanosomiase » est aussi appelée « maladie de Dutton », premier stade de la maladie du sommeil. Les deux syndromes sont dus à *T. gambiense*, les trypanosomes infectant les rats étant les mêmes qu'ils proviennent de malades neurologiques ou de patients au stade de maladie fébrile générale. C'est aussi la conclusion de Greig et Gray (1904a ; 1904b) en Ouganda, qui considèrent que les deux maladies en forment une seule et que le trypanosome en est la cause.

Mais les mauvaises conceptions ont la vie dure et un rapport du Commissaire du Protectorat de l'Ouganda, le Lieutenant-Colonel Hayes Sadler, publié devant le parlement, décrit la situation de la maladie du sommeil comme préoccupante (Anonymous, 1904b). Il dit que les autorités suivent avec intérêt les travaux de recherche, mais insiste lui-même sur la possibilité que les moustiques transmettent la maladie.

Néanmoins, on peut conclure que les années 1901, 1902 et 1903 présentent une position charnière dans la dynamique de recherche et de mise en place des moyens de lutte contre la maladie du sommeil.

C'est en fait la découverte de *Trypanosoma rhodesiense* par Fantham et Thomson (1910) qui clôt cette période extrêmement active pour la recherche, qui aura vu en quelques années la découverte de l'agent causal de la maladie, de son vecteur, des premiers traitements efficaces et de la compréhension physiopathologique de la THA.

Pendant de nombreuses années, la différentiation entre les deux espèces de trypanosomes pathogènes pour l'homme est difficile (Laveran, 1906). Le fait principal qui distingue les deux trypanosomes est que chez *T. b. gambiense*, la

résistance au sérum humain normal est constitutive et indépendante de la présence de ce dernier.

1.4.2. - Le vecteur du nagana et de la maladie du sommeil : la mouche tsé-tsé ou glossine

Une des premières narrations à propos de la mouche tsé-tsé et du danger qu'elle fait encourir au bétail est rapportée par Claude Fuller (1932), entomologiste australien qui a étudié les glossines dans le nord du Transvaal. Il fut frappé par la tragédie qui, près d'un siècle plus tôt, décima le groupe de Louis Trichardt, un des premiers à avoir fait le Grand Trek pour fuir les conflits avec les Xhosas. Près de la moitié des participants mourut de paludisme lors de leur voyage depuis les environs de Pietersburg à Lourenço Marques (aujourd'hui Maputo au Mozambique) en 1837-1838. Trichardt mourut lui-même six mois après avoir atteint son but. Dans le carnet de route (dagboek) de Trichardt, Fuller retrouve les descriptions concernant le bétail « piqué à mort par les mouches », comme le disaient les indigènes de la région. Trichardt perd presque tout son bétail et note à son arrivée que la maladie des mouches augmente. Deux chevaux sont morts de la même pathologie.

Dans ses voyages au sud de l'Afrique, Livingstone (1857) rencontre la maladie de la mouche tsé-tsé (tsetse fly disease) chez les équidés. Partant de Saint Paul de Loanda et allant vers l'est, Livingstone (1857) suit le cours de la rivière Chobe qui, comme l'Okavango et le Zambèze, se jette dans le désert du Kalahari. Il parcourt ainsi ce qui est aujourd'hui le Botswana. Concernant la mouche tsé-tsé, qu'il découvre entre le Lac Ngami et le Zambèze, il la décrit comme une « mouche piqueuse appelée tsé-tsé ». Cette mouche « n'est pas plus grande que la mouche domestique et est à peu près de la même couleur brune ». Il écrit que, dans ces régions, la piqûre de la mouche tsé-tsé n'infecte que les animaux domestiques, pas l'homme ni les animaux sauvages. « Il est bien connu que la piqûre de cet insecte venimeux est une mort certaine pour le bœuf, le cheval et le chien » (« it is well known that the bite of this poisonous insect is certain death to ox, horse and dog »). Le poison ne semble pas être injecté par un dard ou par des œufs déposés sous la peau. En effet, quand on

laisse une mouche se nourrir librement sur la main, on la voit insérer profondément la partie médiane de trois portions dans laquelle le proboscis se divise ; elle le retire ensuite un peu et la couleur change alors que les mandibules entrent en opération. L'abdomen jusqu'alors plat se dilate et si on ne la dérange pas, la mouche s'envole quand il est plein. Une légère irritation qui démange s'ensuit, mais pas plus qu'une piqûre de moustique. Chez le bœuf comme chez l'homme, il n'y a pas d'effet immédiat. En revanche, quelques jours plus tard, les symptômes suivants surviennent. L'œil et le museau commencent à couler, le pelage se ternit comme si l'animal avait froid, un œdème apparaît sous la joue et parfois au niveau de l'ombilic. Bien que l'animal continue à paître, il commence à maigrir et une flaccidité des muscles survient. Quelques mois plus tard, l'animal périt dans un état d'épuisement extrême. Les animaux en bonne condition périssent tôt après la piqûre, avec l'installation d'une démarche trébuchante et une cécité, comme si le cerveau était affecté.

Pour traiter ces animaux, Braid (1858) exprime l'idée d'utiliser l'arsenic pour traiter la maladie de la mouche tsé-tsé. Deux mois plus tard, Livingstone (1858) indique qu'il a eu la même idée (en 1847-1848) que James Braid. Une jument appartenant à Mr. Gordon Cumming fut conduite à Kolobeng. Livingstone lui administre deux grains d'arsenic dans un petit paquet de fourrage chaque jour pendant une semaine, jusqu'à la survenue d'une éruption cutanée. A la suite du traitement, le pelage devient brillant et la jument va mieux. Cependant, elle reste maigre. Deux mois après cette guérison apparente, le pelage devient de nouveau terne, sec et dur. Une nouvelle cure d'arsenic est alors tentée. Mais la jument devient émaciée et refuse le fourrage. Six mois après la piqûre par la tsé-tsé, la jument meurt dans un état d'épuisement. Dans ses voyages vers le nord et vers Luanda, il rencontre encore des chevaux qui meurent de la maladie. Il affirme être prêt à utiliser l'arsenic à nouveau.

Dans la maladie humaine, c'est aux membres de la commission de la Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene sur la maladie du sommeil en Ouganda, et plus particulièrement au Colonel Bruce, que revient le mérite d'avoir identifié le vecteur de la maladie du sommeil. Bruce (1895 ; 1897) avait auparavant montré que *Glossina morsitans* est responsable de la maladie des équidés. Les travaux sur le trypanosome

attirent l'attention de la communauté scientifique. Un article du Caducée (Anonyme, 1902) les rapporte et indique que *Glossina palpalis*, qui abonde dans les palétuviers des rives de la Gambie, propage sans doute ce trypanosome comme *Glossina morsitans* propage le nagana. Brumpt en juin 1903 (Anonymous, 1903a) émet la théorie que la maladie est transmise par une mouche du genre *Glossina*, cette mouche existant, d'après les missionnaires et les autochtones, entre Dakar et le sud de l'Angola, alors que la maladie existe aussi dans cette zone. Pour lui, les domaines de distribution de la mouche coïncident avec ceux de la maladie. La maladie existe partout où se trouve la mouche et peut se développer partout où on la trouve. Là où la mouche est absente, la maladie l'est aussi.

Cependant, l'intervention de ce vecteur n'est pas reconnue par tous. Manson (Anonymous, 1902b) rejette le parallèle avec la « fly disease » dans la transmission du cas de la patiente européenne hospitalisée au Charing Cross Hospital rapportée par Manson et Daniels (1903). En effet, l'injection du sang de la patiente à l'animal ne reproduit pas la maladie. La même année, Manson (1903) admet que le vecteur peut être une glossine, mais pourrait aussi bien être un stomoxe ou une tique. Ceci malgré les arguments développés par Christy, par Castellani et par Sambon s'opposant à l'implication de *Filaria perstans* et à la distribution identique des glossines et de la maladie du sommeil (Anonymous, 1903d ; Christy, 1903). De plus, la même année, la monographie de Austen sur les mouches tsé-tsé est publiée (Austen, 1903). Peu après, le premier rapport de la commission sur la maladie du sommeil en Ouganda (1903) précise qu'une mouche tsé-tsé serait un vecteur du trypanosome, comme c'est le cas dans la transmission du nagana (Bruce, 1895 ; 1897). Il pourrait s'agir de *Glossina palpalis* décrite par Austen (1903), dont la distribution est la même que celle de la maladie du sommeil. Sambon (Anonymous, 1903f) conclue son intervention devant la réunion de l'Epidemiological Society du 11 décembre 1903 en affirmant que *Glossina palpalis* transmet le trypanosome de la maladie du sommeil du malade au sujet sain. Pour infirmer les dénégations de Manson lors de cette réunion, Brumpt intervient en français pour dire que, pour lui comme pour Sambon, la découverte de Castellani fut le point de départ de leur hypothèse sur le rôle joué

par la mouche tsé-tsé dans la transmission de l'infection à trypanosomes. Le rapport complémentaire de la Commission en Ouganda (1903) précise que les trypanosomes sont transmis du malade au sujet sain uniquement par l'intermédiaire d'une mouche tsé-tsé, *Glossina palpalis*, et que la maladie du sommeil est en fait une maladie humaine due à la mouche tsé-tsé.

Mais c'est donc la glossine malade qui infecte l'homme sain. Comme le souligne le rapport parlementaire de Sir Henry Hesketh Bell, ancien Gouverneur du Protectorat de l'Ouganda, daté « Downing-street, Nov. 17th, 1909 », écrit en 1906 pour le Secrétariat aux Colonies, avant l'épidémie de maladie du sommeil, les mouches tsé-tsé étaient aussi nombreuses qu'actuellement, mais leur piqûre ne donnait aucune maladie (Anonymous, 1910). Il n'y a pas de transmission entre un malade et un sujet sain dans un district d'où sont absentes les glossines.

1.4.3. – Conclusion sur l'évolution historique du diagnostic

De nombreux travaux ont été conduits par la suite et jusqu'à nos jours pour préciser les données princeps acquises en quelques années à l'aube du 20e siècle par des équipes dynamiques mais peu nombreuses. Le génome du trypanosome est séquencé (Berriman et al., 2005). Les entomologistes ont analysé le cycle du trypanosome dans la glossine. Ainsi, dès 1909, Kleine montre que *Glossina palpalis* nourrie sur des animaux infectés par *T. brucei* infectent des animaux sains au bout de 14 à 20 jours et ce jusqu'à la fin de l'expérience (47 jours). Ces données, reproduites par la Sleeping Sickness Commission avec *T. gambiense*, indiquent que le trypanosome subit un cycle de développement chez la mouche. La transmission n'est donc pas uniquement mécanique. Nous ne présenterons pas ici les données des investigations sur le trypanosome, la glossine ou encore l'épidémiologie et le traitement, car elles sortent de notre propos centré presque exclusivement sur le diagnostic.

2. – Le diagnostic clinique au 20e siècle

Jusqu'à la fin du 19e siècle, la maladie du sommeil est une pathologie neurologique qui touche presque exclusivement les Noirs africains ou originaires d'Afrique. Les descriptions sont purement cliniques et les quelques tentatives de classification en phases évolutives sont approximatives. Ainsi, Dryepondt (1901) décrit trois périodes évolutives d'une maladie toujours uniquement neurologique. Mais il faudra attendre la découverte de l'agent étiologique pour que la clinique commence à être codifiée et que les phases évolutives reconnues aujourd'hui soient décrites.

Le tournant du 20e siècle marque l'explosion de la maladie du sommeil. A titre d'exemple, nous citerons les rapports sur les maladies qui surviennent dans les colonies françaises. En 1903, il n'est pas fait mention de la maladie du sommeil (Kermogant, 1905). Une année plus tard (Kermorgant, 1906), cet auteur signale la maladie dans son rapport pour l'année 1904. Puis, dans le rapport de 1906 (Kermorgant, 1908) rapporte qu'elle « est la plaie du Congo ». De la même façon, la maladie est signalée en 1905 comme étant sporadique en Côte d'Ivoire (Vivie, 1907). Ces événements entraînent rapidement la réaction des puissances coloniales et l'envoi de diverses commissions d'enquête médicoscientifique : commission portugaise en Angola et à Principe (Bettencourt et al., 1903b ; Mendes et Kopke, 1909 ; Anonymous, 1904e), divers rapports sur les recherches conduites dans l'Etat indépendant du Congo (Dutton et al., 1904 ; Broden et Rhodain, 1908c ; Schwetz, 1924), commission allemande (Koch, 1907a ; 1907b ; Koch et al., 1909), commission britannique en Ouganda, qui publiera une dizaine de rapports jusqu'à la déclaration de guerre de 1914 (Reports of the sleeping sickness commission, de 1903 à 1910), et mission française au Congo (Martin et al., 1909b). Les travaux réalisés par ces différentes commissions furent extrêmement dynamiques, précisant en quelques années les aspects cliniques de la maladie, le parasite en cause et son vecteur, trouvant même les premières molécules actives sur les trypanosomes et aboutissant en 1916 à la mise en place de la lutte de masse, qui devait avoir raison de l'endémie à la veille des indépendances des anciennes colonies. Le diagnostic est basé sur la clinique, l'examen du sang, des ganglions lymphatiques et du LCR à la recherche des

trypanosomes. Peu de progrès sont réalisés sur le diagnostic et, en 1948, la Conférence africaine de Brazzaville est centrée sur la chimiothérapie et la chimioprophylaxie chez l'homme et l'animal et sur le contrôle entomologique, n'abordant pas le diagnostic de la maladie (Anonyme, 1948).

Aujourd'hui comme hier, un diagnostic précoce est le garant d'un traitement précoce et efficace, car les médicaments du stade neurologique de la maladie sont très toxiques et peuvent être associés à une mortalité élevée. Par ailleurs, un traitement précoce est nécessaire car il permet d'interrompre le cycle de transmission de l'infection dont le réservoir est presque uniquement humain, définissant et justifiant ainsi la stratégie efficace de lutte contre la maladie par l'emploi de dépistages actifs sur le terrain. De plus, un diagnostic de stade neurologique erroné et par voie de conséquence une mauvaise indication thérapeutique représentent un danger potentiel pour le patient.

2.1. – Vers une classification conventionnelle de la maladie du sommeil en stades

Le 19e siècle a du mal à se terminer. La classification des phases évolutives de la maladie telles que nous les connaissons aujourd'hui a du mal à se mettre en place, comme l'indiquent les exemples suivants.

2.1.1. - Rapports de la commission portugaise sur l'île de Principe et en Angola

Le rapport de la Commission portugaise dans l'Ilha do Principe et la Province d'Angola (1901 ; Anonymous, 1902a) présente toujours les signes cliniques sans essai de classification, malgré la description d'un processus évolutif. La maladie du sommeil aurait été importée du Gabon par les esclaves transférés sur l'île de Principe avant 1799 où ils se mélangèrent avec les populations d'origine angolaise pour donner le peuplement actuel. Seuls quelques rares cas ont été vus avant 1887. L'épidémie actuelle est due à l'importation de travailleurs depuis la côte ouest de l'Afrique.

L'incubation est mal définie. Le début de la maladie peut être brutal par un délire souvent homicide, mais plus souvent progressif par des prodromes : malaise général,

faiblesse des membres inférieurs, perte de l'appétit, incapacité de travailler, puis somnolence. Ces signes sont accompagnés de rachialgies et de céphalées occipitales, d'impuissance chez l'homme et d'aménorrhée chez la femme. Il y a toujours des adénopathies qui apparaissent tôt dans l'évolution. Elles sont généralement cervicales mais peuvent intéresser tous les territoires corporels. Elles sont de taille variable, indolores, non adhérentes, mobiles sous la peau, dures et sans tendance à la suppuration ou à une atteinte de la peau sus-jacente. Les vaisseaux lymphatiques ne sont pas congestionnés. Les yeux sont inexpressifs et la paupière supérieure tombe. Le patient est amaigri. Au cours de l'évolution, l'amaigrissement s'accentue. Apparaissent des troubles de la sensibilité, des douleurs parfois augmentées. Le prurit du tronc et des membres est fréquent. Les réflexes superficiels et profonds sont souvent exagérés. Chez tous les patients, on note des trémulations musculaires d'apparition tardive, correspondant à des contractions migrantes de fibres isolées au début. Puis elles sont plus marquées, causant des contractions de tout le muscle. Enfin, elles provoquent des oscillations rythmiques des membres, du tronc puis de la face. La langue est souvent le siège de contractions, ainsi que les globes oculaires. Les mouvements, coordonnés au début de la maladie, se font plus lents, plus difficiles jusqu'à ce que le malade devienne grabataire. Le signe de Romberg n'a jamais été observé, ni aucune paralysie. La somnolence peut être vaincue au début, puis elle devient irrésistible, les patients s'endormant parfois la bouche pleine de nourriture. La fréquence des attaques de somnolence varie d'un jour à l'autre jusqu'à la somnolence continue, bien que le patient puisse toujours être réveillé. Les troubles du comportement sont fréquents et variables. Certains patients sont hyperactifs, furieux, d'autres mélancoliques. La mémoire est peu ou pas affectée. La volonté est amoindrie par la somnolence. La fatigue intellectuelle s'installe rapidement. La baisse de la pression artérielle est constante, le pouls est petit et devient inégal et irrégulier, souvent rapide. Les bruits du cœur sont normaux. La respiration reste inchangée. Il n'y a pas d'affection rhinopharyngée ni buccale. Les amygdales sont normales ainsi que la salivation. L'appétit est conservé et il n'y a pas de nausée ni de vomissement. Parfois un syndrome dysentérique et une diarrhée surviennent, comme c'est commun

sous ces latitudes. Il y a souvent une légère hépatomégalie toujours associé à une splénomégalie mobile et indolore. Il n'y a pas de pigment biliaire dans les urines, tout au plus un peu d'albumine et d'urobiline, mais le volume de la miction n'a pas pu être mesuré par manque de participation des malades. La variation de température n'est pas régulière. Elle peut augmenter, puis diminuer. A l'approche de la mort, elle augmente rarement à 40 °C, diminuant plutôt jusqu'à atteindre parfois 25 °C. Le taux d'hémoglobine est abaissé. *Filaria perstans* n'a été trouvée chez aucun malade. La durée de la maladie est de 2 à 3 mois, dépassant parfois un an. La mortalité sur l'île en 1900 est de 67,4 pour 1000 chez les Européens et de 179,6 pour 1000 chez les Noirs. Sur 821 Noirs décédés, 48 sont morts de maladie du sommeil.

A l'autopsie, on note la présence constante d'une exsudation sous-arachnoïdienne et en conséquence une augmentation de la quantité de LCR dans les ventricules et les espaces sous-séreux. Le LCR n'est jamais limpide, un peu turbide mais pas purulent. Cette exsudation est due à une méningo-arachnoïdite d'intensité variable. L'arachnoïde est épaissie, opalescente parfois. La pie-mère est congestionnée par endroits mais n'adhère pas au parenchyme. Ces lésions prédominent sur la convexité des hémisphères et au niveau du monticulus cerebelli, surtout chez les patients à l'évolution lente. L'inflammation s'étend à la dure-mère et aux méninges sous-jacentes. Dans les cas les plus touchés par l'inflammation des méninges, le parenchyme est parsemé de petites hémorragies ponctiformes à la coupe trouvées dans la substance blanche. Les ganglions de la base sont normaux, la commissure grise normale, le cervelet normal. Au niveau de la moelle épinière, les méninges sont congestionnées, plus au niveau de la pie-mère, avec une prédominance pour la partie basse du bulbe rachidien. Les organes thoraco-abdominaux n'ont pas montré de lésion particulière liée à la maladie du sommeil. Des coupes de microscopie ont été faites au niveau du cortex cérébral (en face des altérations méningées les plus importantes), du pont, du bulbe et de la moelle cervicale, dorsale et lombaire, et des plexus choroïdes, du corps strié et de l'hypothalamus. Dans tous les cas, l'infiltration leucocytaire des méninges, de la pie-mère et de l'arachnoïde est intense, plus prononcée autour des vaisseaux sanguins, dans la matière grise, les cellules rondes

entourant parfois les neurones, et de manière diffuse dans la substance blanche. Les neurones ne montrent pas de signe lésionnel. Les « diplo-streptocoques » existent en grand nombre dans les vaisseaux de la pie-mère, du cerveau et de la moelle, ainsi que dans les manchons lymphatiques des vaisseaux. La Commission conclue que la maladie du sommeil est, à son stade de développement avancé, une méningo-encéphalite et que le traitement est difficile. Vingt-huit cas ont été traités à Lisbonne sans succès.

Dans leur volumineux rapport présenté au Ministère de la marine et des colonies du Portugal sur la maladie du sommeil à Principe et en Angola, Bettencourt et al. (1903b) présentent les symptômes de la maladie de manière détaillée, donnant également l'observation de chacun des 72 cas examinés. En Angola, il semble que la maladie soit récente, car en 1871, elle n'avait pas attiré l'attention. Cependant, signalée en 1877, elle fait des ravages surtout depuis 1900. On la trouve à Luanda et au nord du 14e parallèle. Sur le plan étiologique, la maladie survient dans les endroits chauds et humides avec une végétation abondante. Elle touche tous les sexes à tout âge, prédominant cependant chez les femmes dans le Couenza. L'affection est rare chez les métis et n'est pas rencontrée chez les Blancs. Les auteurs ne pensent pas comme Corre que la maladie soit héréditaire. Ils sont d'avis que la maladie se transmet sur un mode infectieux par les vêtements et la salive. Ils concluent que le système lymphatique est attaqué le premier et que par la suite surviennent les lésions nerveuses. Ils passent en revue les hypothèses infectieuses et font un compte rendu détaillée de toutes leurs autopsies. Ils décrivent un diplo-streptocoque découvert dans le liquide sous arachnoïdien. Mais au moment de publier le rapport, ils découvrent les travaux de Castellani sur le trypanosome et pensent qu'il faudra reconsidérer les hypothèses à la lumière de travaux à venir. Ils font de la maladie une « méningo-encéphalo-myélite diffuse », n'affectant que les segments supérieurs du névraxe.

2.1.2. - Classification de Hodges

Après une période de latence plus ou moins longue, qui peut aller jusqu'à sept ans, selon les descriptions faites chez les immigrants africains aux Antilles, Hodges

(1904) décrit trois stades aux limites mal définies : le stade précoce ; le stade prononcé ; le stade léthargique ou somnolent.

- Les premiers symptômes sont des céphalées persistantes ou intermittentes avec lassitude, ainsi que de vagues douleurs sans localisation bien reproductible. La fièvre est pratiquement toujours détectée. Les ganglions lymphatiques sont augmentés de volume et sont dans tous les territoires, prédominant au niveau du cou. Le mental et les habitudes sont fréquemment perturbées. Un des signes précoces est le tremblement de la langue. La conjonction de ces signes chez une personne qui vient d'une zone d'endémie ou y est allée fait suspecter la maladie. Un symptôme moins précoce est le prurit et les lésions de grattage. Très vite, se développe une faiblesse musculaire surtout des membres inférieurs.
- Le diagnostic est plus facile au deuxième stade. Le comportement du sujet change, ainsi que ses habitudes et son expression faciale. Mais ce stade peut être révélé par des crises d'agitation, des crises épileptiformes, des épisodes maniaques, mélancoliques ou de démence ou des crises de rire faisant croire à l'emprise de l'alcool. Le patient se plaint alors d'insomnie. L'impuissance peut se manifester tôt chez l'homme, les femmes souffrant d'aménorrhée. Les tremblements de la langue s'accentuent et s'étendent aux joues, aux lèvres, voire à tout le corps. Chez l'enfant, surtout, des mouvements choréïformes peuvent survenir. L'expression du visage devient terne, les muscles sont flasques et les jambes perdent leurs forces. Le langage est indistinct. Le regard est vide, fatigué, souffrant. Les vagues douleurs de la tête, du tronc et des membres se poursuivent. Le patient ne veut plus bouger et ne peut plus fixer son attention. Puis, la tendance au sommeil s'étend à toutes les heures et le patient passe graduellement dans le dernier stade léthargique dans lequel il meurt.
- Au dernier stade, on peut voir des mouvements du pouce, des doigts, des convulsions, un ptôsis et une déviation conjuguée des yeux ressemblant au nystagmus.

2.1.3. - Classification de Dryepondt (1901)

A la première période d'invasion (un à 7 ans), les signes sont les suivants : fièvre, céphalées, adénopathies cervicales, glandes salivaires augmentées de volume, rachialgies, circulation et respiration normales, changement de caractère avec irritabilité, signes neurologiques (réflexes ostéotendineux augmentés, troubles visuels, paresthésies). A la deuxième période (2 mois à un an), le patient souffre d'accès de somnolence de plus en plus fréquents, présente une apathie interrompue par des épisodes d'excitation, les réflexes sont abolis, la force musculaire très diminuée, l'engorgement des ganglions disparaît, la respiration et la circulation sont ralenties. A la troisième période (un mois), la misère physiologique, le sommeil presque continuel, puis le coma précèdent le décès du patient. Les autopsies ont montré qu'il s'agit d'une méningo-encéphalite.

2.1.4. - Broden et Rhodain (1908c ; Anonymous, 1909) distinguent d'une manière plus précise deux stades selon que le LCR est normal ou altéré. Au début de la maladie, la composition du LCR est sans changement. Il contient peu de petits lymphocytes et des traces d'albumine et de glucose, comme le LCR normal. Le diagnostic de la maladie se fait donc par l'examen du sang et des ganglions lymphatiques. Au stade de maladie établie, la réaction méningée est révélée par une lymphocytorachie marquée, avec occasionnellement des cellules morulaires vacuolées. La constitution chimique du LCR change alors, avec augmentation de la sérumalbumine et de la globuline. La quantité d'albumine peut atteindre 1 %, sans variation du glucose ; les trypanosomes sont vus de manière inconstante. Au stade terminal, des myélocytes acidophiles peuvent être observés, avec de volumineux éléments cellulaires d'origine incertaine et des cellules endothéliales. La réaction méningée est de grande valeur sur le plan du pronostic et du suivi du traitement. Les auteurs recommandent la poursuite du traitement par l'Atoxyl (un arsenical) tant que le LCR n'est pas revenu à la normale. Pour ces auteurs, l'évolution rapide vers l'aggravation n'est pas inéluctable et, à côté de la trypanosomiase-maladie, est envisagée une trypanosomiase-parasitose sans grande expression clinique. Celle-ci

revêt un grand intérêt épidémiologique comme cause principale de la persistance de l'endémie et des réveils périodiques épidémiques.

2.1.5. – La classification de Martin et Leboeuf (1908b ; 1909)

Les résultats obtenus par la mission française sur la maladie du sommeil au Congo ont fait évoluer la conception clinique de la maladie de manière décisive. La mission française au Congo a sillonné l'Afrique équatoriale (Gabon, Moyen-Congo et Oubangui-Chari-Tchad) pendant deux ans de 1906 à 1908 (Martin et al., 1909b). La première action a été la création d'un laboratoire à Brazzaville à la demande du Commissaire général Gentil et du chef du Service de santé au Congo. Le financement a été initié par la Société de géographie, les autres donateurs les plus importants étant le Gouvernement général du Congo, le Ministère des colonies, l'Institut Pasteur à Paris, une attribution sur le legs Giffard, la Société antiesclavagiste, la Baronne Leonino, etc. L'industrie locale ou européenne ne fut pas en reste et la mission reçut même des donations britanniques. Sur le plan technique et scientifique, une Commission fut créée au sein de l'Association scientifique internationale d'agronomie coloniale, Alphonse Laveran en étant le vice-président (président : Le Myre de Vilers). La mission est qualifiée d'œuvre « humanitaire », l'avenir économique du Congo étant par ailleurs lié au contrôle de la trypanosomiase humaine.

Les travaux de recherche promus par la mission ont précisé les signes cliniques de la THA. Ils sont salués par Bagshawe (1909) comme un « travail remarquable ». Cependant, les auteurs du rapport (Martin et al., 1909b) précisent qu'en « l'état actuel de nos connaissances, il ne peut y avoir de diagnostic certain sans que la présence du trypanosome, agent de l'infection, ait été révélée dans l'organisme ». Pour ces auteurs, il est classique de distinguer deux périodes, une plutôt silencieuse qui peut durer plusieurs années, la seconde durant six mois à un an, marquée par les symptômes caractéristiques qui avaient fait donner à la trypanosomiase le nom de maladie du sommeil. Ils précisent que leurs descriptions s'appliquent à un cas type de

la maladie, d'autant que l'affaiblissement de la résistance aux autres maladies peut venir interrompre le cours normal de l'infection.

La phase d'incubation dure de l'introduction dans l'organisme du trypanosome à son apparition dans le sang et les ganglions. La piqûre peut être suivie d'un pseudo-furoncle ou d'une petite tumeur au point d'inoculation ou s'accompagner de taches rouges, puis d'adénite et de fièvre dès le lendemain. Elle peut durer une dizaine de jours à trois semaines.

La phase d'invasion est mieux précisée chez les Blancs que chez les Africains. Elle est caractérisée par des accès de fièvre irréguliers résistants à la quinine, accompagnés de fatigue et de malaise général. Les patients présentent aussi des céphalées, une inappétence, une hyperesthésie dès qu'ils se cognent, « tourner une clef » dans une serrure peut causer une souffrance, des plaques érythémateuses cutanées, voire des vomissements ou de la diarrhée. Une excitation nerveuse intense avec insomnie est presque de règle, même quelques jours après la piqûre, ainsi que la « prostration des forces » et l'amaigrissement rapide. Ces symptômes s'amendent considérablement en 15 à 20 jours et finissent même par disparaître au début de la phase d'état, sauf pour les accès de fièvre surtout vespéraux.

La phase d'état se subdivise en deux parties :

- **La première période** s'étend de l'apparition des trypanosomes dans le sang ou la lymphe ganglionnaire à leur apparition dans le LCR : « … c'est le laps de temps qui s'écoule depuis le moment où les parasites font leur apparition dans le sang ou la lymphe ganglionnaire jusqu'à celui où on peut déceler leur présence dans le liquide céphalo-rachidien » Martin et Leboeuf, 1908b). La détermination de cette phase par le microscope est importante pour le pronostic, car l'Atoxyl seul ne permet pas la guérison dès que le trypanosome a pénétré dans les espaces arachnoïdiens. Or le recours aux seuls signes cliniques est aléatoire, car des sujets ayant des trypanosomes dans le LCR peuvent être asymptomatiques. La durée de cette période est variable, de quelques mois à quelques années. Les épisodes fébriles sont espacés. Le pouls est accéléré, atteignant fréquemment 120 pulsations par minute. C'est un signe presque

constant. L'accélération du rythme respiratoire est moins nette. L'hyperesthésie profonde, au brusque contact d'une crête osseuse (os du métacarpe, tibia, ou même thorax) avec une surface dure, est une douleur vive, immédiate et diminuant rapidement, disproportionnée par rapport à la violence du choc. C'est le signe de la clef de Kérandel, nom proposé par Martin et Darré (1908b) du nom du médecin qui l'observa sur lui-même (Kérandel, 1910). Les érythèmes cutanés ou « trypanides par analogie avec les syphilides », bien visibles chez les Européens, variant du rose au rouge, sans relief, affectent l'aspect de marbrures, de placards irréguliers ou de taches nettement annulaires. Elles surviennent surtout sur le tronc et plus rarement les membres inférieurs et supérieurs. Elles peuvent s'accompagner de prurit. Chez le Noir, elles prendraient l'aspect de taches cuivrées, comme dans la lèpre. Les oedèmes sont précoces mais inconstants. Ils sont fugaces au début et parfois douloureux. Ils affectent la base du nez, la lèvre supérieure, les paupières inférieures surtout entraînant un ptôsis. Le faciès du malade prend un aspect caractéristique, « Japonais ». Le prurit tourmente les malades, occasionnant des lésions de grattage. La céphalée est fréquente. Elle est fugace et « peut occuper les points du crâne les plus divers ». La faiblesse et l'amaigrissement sont très légers. L'anémie est presque constante. Le « sens génital » est touché très tôt : impuissance chez l'homme, aménorrhée chez la femme. Sur le plan digestif, on observe souvent des vomissements, des coliques de la diarrhée sanguinolente, des crises dysentériformes, exceptionnellement de la constipation. Ces symptômes peuvent faire passer à côté du diagnostic de trypanosomiase. Les troubles oculaires sont passagers, à type de photophobie, de sensation de brouillard. La polyadénite fait parfois défaut, mais les adénopathies cervicales représentent un signe d'appel de la maladie. Les ganglions peuvent être indolores ou douloureux à la palpation ou spontanément.

- **La deuxième période** débute avec l'apparition des trypanosomes dans les espaces sous-arachnoïdiens : « La deuxième période de la maladie débute avec l'apparition des flagellés dans les espaces sous-arachnoïdiens. Cette période se

distingue moins nettement de la troisième que la première ne diffère de la seconde, car c'est à la clinique seule que nous aurons recours pour en préciser la terminaison » (Martin et Leboeuf, 1908b). L'Atoxyl seul n'est pas actif et il faut lui adjoindre d'autres médicaments (couleurs de benzidine, sels de mercure, émétique, etc.). La fin de cette période est marquée par l'apparition d'une hébétude et un désintérêt du malade pour ce qui l'entoure. Les signes de la première période sont exagérés. Les oedèmes sont inconstants mais ne sont pas fugaces. Ils touchent surtout les malléoles et la face. La céphalée s'affirme, est plus violente, tenace, sans localisation précise. La fonction digestive est le plus souvent normale. Les épisodes fébriles sont plus fréquents, plus prolongés et finalement on observe la fièvre quotidienne à type vespéral. Les hypertrophies ganglionnaires sont toujours inconstantes mais représentent aussi un signe d'appel. La faiblesse et l'amaigrissement évoluent parallèlement mais sont inconstants. La somnolence est inconstante et peut être remplacée par une insomnie. Peu à peu le caractère des malades change. Ils deviennent émotifs, pleurent ou se mettent en colère pour des motifs futiles. Une légère apathie intellectuelle se dessine. La tendance à l'assoupissement augmente. C'est le début de la prééminence des signes nerveux. On observe des tremblements fibrillaires de la langue. Les tremblements peuvent affecter les membres supérieurs, surtout en extension. Le nystagmus est rarement observé. Les modifications des réflexes et de la sensibilité ne sont pas systématiques : des zones d'anesthésie ou d'hypersensibilité, des phénomènes parétiques sont signalés. Les troubles de l'équilibre et les vertiges peuvent se voir. Le patient oscille lorsqu'il est debout les paupières baissées et, à un stade avancé, il ne peut plus, les yeux fermés, se tenir sur ses deux jambes.

- **La troisième période terminale**, caractérisée par le sommeil profond, indique qu'il n'y a plus d'espoir, car aucun médicament ne pourra plus guérir le malade. Le patient présente une apathie intellectuelle profonde, la « raison est parfois totalement abolie et l'on peut observer de véritables crises de folie furieuse ». Les troubles de l'équilibre augmentent et le patient tombe après une

ou deux oscillations s'il est debout les yeux fermés. La somnolence fait place à « une torpeur invincible qui surprend le malade au cours des actes les plus élémentaires de la vie ». Mais elle peut aussi ne jamais survenir. Les tremblements fibrillaires de la langue s'accentuent et gênent la parole. Les tremblements s'étendent au tronc et au corps tout entier. De véritables crises convulsives de type Jacksonnien surviennent aux membres inférieurs. Une hypothermie peut être observée. L'amaigrissement devient considérable. En revanche, l'appétit est conservé, voire vorace. La diarrhée est souvent profuse. Puis les malades deviennent grabataires, pouvant faire des escarres. La fin survient soit dans le coma avec une température bien inférieure à la normale, soit par une affection intercurrente. A la troisième période les troubles nerveux sont de deux types, la forme médullaire et la forme cérébrale.

La forme médullaire (Martin et Guillain, 1909), qui survient en général au début de l'évolution, est faite de parésie ou de paralysie des membres inférieurs avec amyotrophie ou des membres supérieurs. Les troubles sensitifs sont à type de douleur, de troubles de la sensibilité (anesthésie, hypoesthésie). Les réflexes rotuliens peuvent être exagérés, indifférents ou abolis. Le signe de Babinski peut être observé. L'excitabilité électrique est diminuée. Ces malades sont curables.

La forme cérébrale (Martin et Darré, 1908b ; Martin et Darré, 1909, Martin et al., 1909a) donne des accidents cérébraux très variables plus tardifs. Les formes diffuses se traduisent soit par un syndrome méningé subaigu, qui disparaît sous traitement, soit par un syndrome mental chronique. Ce dernier est caractérisé par la déchéance intellectuelle (stupeur, gâtisme, confusion, amnésie, désorientation, hallucinations visuelles et auditives, voire accès délirants) précédée ou non d'une période d'exaltation avec actes incorrects, délictueux ou criminels. La guérison des ce syndrome mental est toujours incomplète. La forme diffuse se traduit par un syndrome cortical rolandique avec crises d'épilepsie Bravais-Jacksonnienne, myoclonies, hémiplégie ou aphasie. Généralement, elles sont associées à des symptômes mentaux. Les

auteurs interprètent ce signes par les lésions anatomopathologiques observées par plusieurs auteurs (Bettencourt et al., 1903a ; Bettencourt et al., 1903b ; Mott, 1905 ; Mott, 1906a ; Mott, 1906b).

2.1.6. – La maladie chez les Blancs

Martin et Darré (1910) distinguent plusieurs formes évolutives de la trypanosomiase chez les Européens :

- Les formes légères sont définies comme étant curables par l'Atoxyl associé à l'orpiment ou à l'émétique (elles seraient vraisemblablement traitées aujourd'hui par la pentamidine), marquées par une fièvre assez vive mais de courte durée qui marque le début de l'affection, bientôt suivie par un peu d'asthénie, d'anémie, d'amaigrissement. Les malades peuvent présenter les symptômes suivants : érythèmes circinés, adénopathies, tachycardie, hyperesthésie profonde, légères modifications du caractère, légère diminution de l'aptitude au travail intellectuel. Les trypanosomes sont présents dans le sang et les ganglions, mais absents du LCR. La lymphocytose est légère faite de petits lymphocytes, qui d'après les auteurs « traduisent l'irritation des méninges » et prouvent « la présence des parasites au niveau du névraxe ».
- Les formes moyennes sont toujours sensibles à l'Atoxyl en l'absence de trypanosomes dans le LCR. Mais on assiste à une exagération des symptômes précédents.
- Les formes nerveuses précoces voient rapidement des accidents nerveux survenir. On distingue les formes médullaires et les formes cérébrales. Les formes médullaires se caractérisent par des symptômes de myélite diffuse (paraplégie, atrophie musculaire, troubles de la sensibilité à topographie radiculaire, etc.). Ces patients sont traitables par l'Atoxyl et ses associations. Les formes cérébrales précoces, qui présentent une obnubilation intellectuelle, de la somnolence, des attaques de sommeil, n'ont pas de trypanosomes dans le LCR. Mais celui-ci est le siège d'une lymphocytose un peu plus marquée que dans les formes précédentes.

- Les formes à rechutes, débutant de la même façon, évoluent par poussées successives. Le traitement fait disparaître les signes, mais les accidents réapparaissent presque toujours sous la forme de signes neurologiques. On peut alors mettre en évidence des trypanosomes dans le LCR, qui contient de très nombreux éléments cellulaires, lymphocytes et grosses cellules mononucléaires dont certaines sont en dégénérescence.

2.2. – La conception clinique actuelle

Actuellement (Gallais, 1953 ; Dumas et Bisser, 1999 ; Dumas et al., 1999), on distingue trois phases évolutives dans la THA : le chancre, le stade hémolymphatique (stade 1) ou de dissémination sanguine et lymphatique et le stade d'atteinte neurologique (stade 2). Au stade 2, trois syndromes peuvent être distingués : un syndrome psychique, un syndrome endocrinien et un syndrome neurologique. La symptomatologie polymorphe de cette maladie varie en fonction de l'espèce de trypanosome et des réactions immunitaires de l'hôte. Elle évolue avec la progression de la maladie pouvant conduire à des erreurs diagnostiques en zone d'endémie et surtout en Europe entraînant des séjours prolongés en institution psychiatrique. Les symptômes de la maladie peuvent passer longtemps inaperçus ou se manifester de façon spectaculaire. Par ailleurs, il a été souvent souligné que les signes cliniques sont peu spécifiques le plus souvent et le diagnostic est difficile (Jannin et al., 1993). Les manifestations cliniques propres à chaque étape de la maladie sont durables ou fugitives, nécessitant la répétition des examens quotidiennement.

2.2.1. - Lésion initiale, chancre ou trypanome

La piqûre de glossine est douloureuse et provoque un nodule chaud, un furoncle sans tête, le chancre ou trypanome, qui peut siéger en n'importe quelle partie du corps, très fréquemment à la nuque. Dans les zones d'endémie, la lésion initiale passe souvent inaperçue car elle est difficile à identifier sur peau noire et on ne connaît pas la fréquence réelle avec laquelle elle se développe. Par ailleurs, l'anamnèse auprès des paysans africains est difficile et l'histoire de la maladie est souvent impossible à

reconstituer. Le trypanome est plus fréquemment observé chez l'Européen chez qui cette petite tumeur peut se résorber sans suppuration. Le chancre est également plus fréquent dans la forme à *T. b. rhodesiense* (Malvy et al., 2000). Dans ce cas, la scarification et l'examen du suc dermique permettent parfois un diagnostic positif de la maladie rapidement établi. En effet, les trypanosomes se multiplient au point d'inoculation, induisant une adénopathie régionale satellite, ainsi que des phénomènes généraux le plus souvent discrets. Néanmoins, parmi de nombreuses observations, l'auto-observation de Kérandel (1910) montre bien que les symptômes peuvent être d'installation rapide, dès le soir même de la piqûre, « par un malaise général, une digestion pénible et une petite tumeur cervicale douloureuse ressemblant à un furoncle. Le lendemain, les céphalées s'installent et la fièvre monte. Une entérocolite s'installe. Les adénopathies apparaissent le surlendemain. L'insomnie nocturne est constante. ».

Les trypanosomoses d'inoculation, un temps préconisées dans le traitement de troubles psychotiques (Gallais et Collomb, 1957 ; Gallais et al., 1953), ont bien montré l'installation du trypanome. Quelques heures après l'inoculation, une macule érythémateuse s'étale pour se transformer rapidement en papule oedémateuse violacée (chez le Blanc), donnant l'image classique de furoncle sans tête, pouvant atteindre la taille de la paume de la main. Des phlycthènes minuscules puis convergentes en occupent le centre. La durée de la lésion est de trois semaines, l'acmé survenant en 10 jours. Elle s'accompagne d'une adénopathie satellite et d'une légère fébricule en association avec un vague malaise et une inappétence.

2.2.2. – La phase d'incubation

Pour Martin et Leboeuf (1908a), le début de la maladie peut être déterminé plus facilement chez les Européens (cinq observations rapportées) que chez les Africains. Les premiers gardent plus facilement le souvenir de la date de la piqûre. Comme dans la trypanosomose d'inoculation (Gallais et al., 1953), c'est en général huit à dix jours après la piqûre que surviennent les premiers symptômes généraux (Collomb et al., 1957). Les signes cutanés à types de pseudo furoncles ou de taches érythémateuses

s'installent, accompagnés de fièvre et d'adénopathies de la nuque, du creux poplité, de l'aine ou du creux axillaire. Les trypanosomes sont trouvés dans le sang ou les ganglions dans les dix jours qui suivent la piqûre. Mais la latence d'apparition des signes cliniques peut, comme aux Antilles, atteindre 7 ans (Guérin, 1869). Ce temps de latence déjà très long peut encore l'être plus. Ainsi, Pinard et al. (1939) publient le cas d'un malade de Pointe-Noire, en France depuis 15 ans, qui débuta la maladie par un prurit et des crises d'épilepsie généralisée, la dernière survenant après 4 jours et nuits de hoquet incoercible. La leucocytorachie était alors de 1 800/µL. Une ponction sous-occipitale permit de trouver des trypanosomes dans le LCR.

2.2.3. - Le stade lymphaticosanguin (stade 1) ou phase hémolymphatique

2.2.3.1. – L'hypertrophie ganglionnaire, l'hépatomégalie et la splénomégalie

Les trypanosomes envahissent le système hémolymphatique loco-régional avant de provoquer une infection généralisée. Toutes les chaînes ganglionnaires peuvent être envahies. Mais, de façon caractéristique, la chaîne cervicale latérale en arrière du muscle sterno-cléido-mastoïdien constitue le signe de Winterbottom (Collomb et al., 1958). Ces adénopathies sont de volume variable, de la grosseur d'une noisette ou d'un pois, ou encore d'une amande ou d'un œuf de pigeon. Elles sont le plus souvent molles et élastiques donnant l'impression d'une prune mûre. Ou bien elles sont fermes et mobiles sur les plans profonds, non douloureuses. Elles peuvent persister pendant des semaines ou des mois. Elles constituaient autrefois un signe essentiel de la maladie (les porteurs de ganglions étaient exclus du marché des esclaves) et furent un bon moyen de sélection utilisée pendant les campagnes de dépistage même si d'autres affections peuvent provoquer des manifestations identiques. La palpation ganglionnaire est utilisable pour les campagnes de détection de masse (Bagshawe, 1909) pour connaître le pourcentage d'infection dans une communauté, afin de séparer les gens qui doivent être examinés plus en détail. Il est admis que ce n'est pas une méthode parfaite. Il est évident que les adénopathies ne sont pas présentes chez tous les malades et qu'elles peuvent l'être dans d'autres pathologies.

Depuis les travaux de Greig et Gray (1904a ; 1904b), la présence d'adénopathies, surtout au niveau de la région cervicale latéro-postérieure ou sus-claviculaire, a longtemps été et est toujours considérée comme un signe d'appel de la maladie du sommeil. Les ganglions augmentés de volume sont mobiles, indolores et rénitents. Sur le terrain, de toute façon, tout individu ayant des adénopathies cervicales est considéré comme étant suspect de THA. Cependant, la sensibilité, la spécificité et la reproductibilité de ce signe sont faibles en pratique, bien qu'elles varient d'une région à une autre (Martin et Leboeuf, 1908c ; Todd, 1908 ; Guillet, 1924 ; Lutumba et al., 2005). Il est donc nécessaire, eu égard à la toxicité des médicaments utilisés et à la complexité de leur administration, de rechercher la confirmation parasitologique de la présence de trypanosome avant la mise du patient sous traitement (Todd, 1908 ; Lutumba et al., 2005).

Aujourd'hui, le signe de Winterbottom peut toujours être un signe d'appel déterminant (Stephan et al., 2002). A titre d'exemple, un patient de 35 ans originaire du Congo et vivant en Europe entre Francfort et Paris depuis cinq années et présentant une fatigue, une somnolence et ayant développé une cardiomyopathie, présentait ce signe ainsi que des adénopathies intra abdominales détectées par sonographie (Monge-Strauss et al., 1996). Le diagnostic, après être passé par toutes les autres recherches étiologiques a été confirmé par la positivité au CATT et à l'immunofluorescence, mais surtout par la PCR, seul moyen de détecter les trypanosomes chez ce patient. Le traitement par l'éflornithine a entraîné la résolution de tous les signes, y compris des signes cardiaques.

Ainsi, les adénopathies doivent-elles être recherchées, mais si leur présence est considérée comme un signe d'appel de la maladie du sommeil, leur absence doit faire rechercher la réalité de l'infection par d'autres moyens techniques. Elle ne laisse d'ailleurs pas présager de l'évolution de la maladie.

L'hépatomégalie et la splénomégalie (un quart des cas ; Laveran et Thiroux, 1907) sont en général modérées et accompagnent souvent les adénopathies cervicales postérieures, constituant ainsi une extension du syndrome d'atteinte du système monocytaire macrophagique (Collomb et al., 1958). Des complications ictéro-

hémorragiques (Bourgeade et al., 1986 ; Le Bras et al., 1973 ; Kouchner et al., 1979) ou des formes d'hépatite chronique ont été décrites.

2.2.3.2. – La fièvre

La fièvre peut être présente à tout moment et il est difficile de la décrire alors que l'évolution de la maladie s'échelonne sur des mois ou des années (Collomb et al., 1958). Elle est reconnue depuis longtemps comme étant irrégulière (Forde, 1902) et résistante à la quinine (Martin et al., 1909b). En zone d'endémie, le diagnostic d'une fièvre résistante à un anti-paludique doit faire évoquer le diagnostic de THA. Les premiers pics sont élevés (38-40°C), puis la température corporelle devient irrégulière, ondulante et évolue par cycles non systématisés de plusieurs jours, accompagnés de signes généraux (état congestif, céphalées, prostration, insomnie). Les rémissions matinales sont plus ou moins importantes. Les ondes fébriles récurrentes durent environ 5 à 7 jours et sont séparées par une phase d'apyrexie ou de fébricule. La courbe thermique devient bientôt très irrégulière, les ondes fébriles s'estompant. Se greffent alors des pics hyperthermiques ou encore des accidents hypothermiques. A l'examen des courbes présentées par les différents rapports et articles publiés, il n'est pas rare de voir de tels accidents hypothermiques survenir peu de temps avant le décès du patient (voir la Figure 3 de Collomb et al., 1958). Il se pourrait bien que l'hypothermie soit liée à l'inhibition de la NO synthase (Scammel et al., 1996) constatée dans le sang des patients trypanosomés (Buguet et al., 1996 ; Buguet et al., 2002).

Chevrier et al. (2005) montrent, chez le rat enregistré par télémétrie de l'inoculation par *T. brucei* à la mort, la conservation du rythme circadien de la température interne pendant une dizaine de jours (enregistrement toutes les 2 minutes pendant une vingtaine de nycthémères, l'animal mourant entre 18 et 28 jours après l'inoculation). Au bout de ce laps de temps, un accident hypothermique survient (température chutant à 33 °C), accompagné d'une perte de l'appétit et une chute de la prise de poids. Les auteurs pensent que cet accident marque la fin de la phase hémolymphatique. De fait, pour Darsaud et al. (2004), sur le même modèle, ces

événements sont concomitants de la pénétration de trypanosomes au niveau des plexus choroïdes.

2.2.3.3. – Les signes cutanés

Les signes cutanés sont presque constants chez les Caucasiens infectés par *T. b. rhodesiense* (Darré, 1908 ; Collomb et al., 1958). Il s'agit d'éruptions papulo-érythémateuses très polymorphes, les trypanides, disposées en placards circinés ou s'étalant en larges surfaces aux contours polycycliques, ou encore en stries de un à quelques centimètres de large, en croissants, en anneaux en arabesques. Leur relief est plus ou moins accusé. Leur couleur varie du rose pâle au rouge violacé. Ces éruptions peuvent être prurigineuses ou oedémateuses, ou encore être hémorragiques ou nécrotiques. Elles prédominent au niveau du tronc (poitrine, dos, abdomen) ou des racines des membres, mais peuvent se voir sur tout le corps. Ces lésions cutanées surviennent très tôt, souvent dès le premier pic fébrile. Leur évolution est très variable. Elles peuvent totalement disparaître ou durer des années, ou encore récidiver de façon capricieuse.

Chez les sujets à peau noire, les lésions cutanées sont moins facilement visibles. Elles revêtent sensiblement le même aspect que chez le Caucasien.

2.2.3.4. – Les œdèmes

L'œdème de la face sous-orbital est un signe souvent décrit, car il serait présent chez 75 % des patients. Il est mobile, fugace, volontiers localisé à l'angle externe des paupières inférieures, donnant un aspect bouffi au réveil. Les oedèmes des membres inférieurs sont localisés aux régions malléolaires et prétibiales, quelquefois aux membres supérieurs et dans la région présternale.

2.2.3.5. – Symptomatologie cardiovasculaire

L'atteinte cardiovasculaire est constante dans la THA, mais sa traduction clinique est très pauvre. Elle se traduit le plus souvent par une chute de la tension artérielle, un assourdissement des bruits du cœur ou une arythmie cardiaque, plus rarement, par des

palpitations ou des syncopes. Des atteintes plus graves de la sphère cardiovasculaire sont couramment observées dans la maladie à *T. b. rhodesiense*, avec une évolution aiguë vers décès du patient par arythmie et pancardite (Poltera, 1976). Dans la THA à *T. b gambiense*, les troubles de la sphère cardiovasculaire sont plus discrets (Collomb et al., 1967 ; Bertrand et al., 1967) : tachycardie persistante (120 bpm), douleurs précordiales atypiques, troubles du rythme auriculo-ventriculaire, souffle, hypotension artérielle, myocardie avec assourdissement des bruits du cœur ou péricardite débutante. Des hémorragies peuvent se voir, telles que des épistaxis, des gingivorragies, des hémorragies spongieuses rétiniennes ou des hémorragies digestives. La présence d'une symptomatologie cardiovasculaire ne laisse pas présager du développement d'une encéphalopathie réactionnelle au traitement par les sels d'arsenic, bien que la gravité des lésions cardiaques soit en relation avec le stade évolutif de la maladie (Bertrand et al., 1973).

2.2.3.6. – Les symptômes neurologiques et endocriniens

Les signes possiblement liés à l'inondation par les cytokines pro-inflammatoires

Un certain nombre de symptômes sont observés au cours du stade hémolymphatique et se rencontrent aussi lors de la phase de polarisation nerveuse de la maladie (Collomb et al., 1958). Cependant, ces manifestations pourraient avoir des origines différentes. Au cours du stade 1, elles pourraient bien être liées aux cytokines pro-inflammatoires (Szenelyi, 2001), telles que le tumor necrosis factor (TNF-α) et l'interféron-γ (IFN-γ), dont la concentration plasmatique est augmentée de manière importante (Okomo-Assoumou et al., 1995b ; Rhind et al., 1997 ; Daulouède et al., 2000). Ces cytokines sont en effet connues pour induire un malaise général, une augmentation de la température et un effet hypnogène (Szenelyi, 2001). On peut ranger dans cette catégorie les symptômes tels que les céphalées, les courbatures, l'asthénie, la frilosité ou encore les troubles du sommeil.

Les céphalées occipito-frontales sont souvent rapportées. Elles sont persistantes mais supportables, plus rarement violentes.

Le prurit est encore discret, intermittent. Pour le patient, il se confond avec des sensations paresthésiques variées.

Les courbatures, rachialgies, douleurs de type rhumatismal sont contemporaines des poussées fébriles. Les crampes des membres inférieurs, surtout le matin (Kérandel, 1910) sont peut-être à relier aux mouvements périodiques des membres inférieurs objectivés lors de certains enregistrements polysomnographiques (Monge-Strauss et al., 1996 ; Sanner et al., 2000).

L'asthénie permanente et la fatigabilité au moindre effort sont connues depuis longtemps. Elle peut aussi très bien s'apparenter à l'inondation par les cytokines pro-inflammatoires.

La frilosité est permanente, plus ou moins liée à la courbe thermique.

Les troubles du sommeil se voient aussi à ce stade. Ils sont surtout à type d'insomnie nocturne, mais peuvent aussi être représentés par une somnolence diurne.

Les symptômes difficilement classables

L'hyperesthésie profonde spontanée ou provoquée par la pression a été mise en exergue par le signe de la clef de Kérandel (1910) : une douleur vive dans la paume de la main naît lorsque le patient tourne une clef dans une serrure. Les douleurs musculaires et osseuses généralisées, complètent ce tableau. Le simple fait de se cogner sur une aspérité d'un mur ou un coin de table provoque une douleur intense.

Les troubles de la sphère sexuelle sont courants. L'impuissance peut se manifester tôt chez l'homme, les femmes souffrant d'aménorrhée et de stérilité (Anonymous, 1902a ; Hodges, 1904 ; Martin et al., 1909b), ce symptôme survenant chez 10 % des femmes (Laquièze et Berny, 1933b). La frigidité génitale touche 2 % des cas à n'importe quel stade évolutif de la maladie. Le traitement fait régresser ces signes (Laquièze et Berny, 1933a).

Les troubles de l'humeur sont dominés par une anxiété modifiant les rapports affectifs. Les troubles du comportement frappent surtout l'entourage. Les sujets peuvent présenter des phases d'excitation ou de dépression dont ils n'étaient pas coutumiers. Ils deviennent instables, irritables, tristes ou apathiques, indifférents pour

eux-mêmes et leur entourage. Ils présentent des difficultés à travailler comme auparavant.

2.2.3.7. – Les troubles digestifs et urinaires

Il est classique de décrire des troubles digestifs tels qu'une perte de l'appétit, de nausées ou de vomissements bilieux lors des reprises évolutives. Les épisodes diarrhéiques sont décrits par de nombreux auteurs, la diarrhée pouvant être profuse réalisant de véritables syndromes dysentériques. L'examen des selles peut révéler une purée de plasmocytes (Collomb et al., 1958). Les troubles urinaires sont rares et à tout le moins à type d'albuminurie.

2.2.3.8. – Les troubles oculaires

Les troubles oculaires sont rares dans la THA. Un cas d'irido-cyclite est décrit chez un homme de 29 ans, Européen vivant au Congo (Anonyme, 1911) ayant eu des accès de fièvre depuis deux mois, avec sueurs profuses, fatigue, nervosité, douleurs profondes, avec apparition de taches cutanées violacées sur le thorax et les bras.

2.2.4. - Le stade méningo-encéphalitique (stade 2) ou phase de polarisation cérébrale

L'atteinte du système nerveux central se développe rapidement ou insidieusement au fil des années. La topographie neurologique des symptômes peut permettre de définir un niveau lésionnel mais bien souvent les symptomatologies s'intriquent pour former un tableau complexe d'encéphalite diffuse (Boa et al., 1988). Lapeyssonnie (1970), alors directeur adjoint de l'Ecole d'application des troupes de marines et Institut de médecine tropicale du Pharo, commençait son cours en disant que tout signe neurologique ou psychiatrique anormal en zone d'endémie de la THA doit faire évoquer l'implication de la THA.

2.2.4.1. – Les symptômes déjà décrits au stade 1

La température interne reste très capricieuse avec les mêmes types d'accidents décrits précédemment. Chez le rat, Chevrier et al. (2005) ont décrit des épisodes d'hypothermie majeure survenant brutalement au cours de l'évolution avec une récurrence de 4 à 5 jours. L'animal décède souvent au cours ou au décours d'un tel épisode. Les accidents hypothermiques sont le plus souvent suivis d'un rebond légèrement hyperthermique et d'une atténuation de l'amplitude circadienne de la température interne. Cette atténuation est accentuée après chaque accident hypothermique successif. La mort de l'animal survient au cours ou au décours d'un accident hypothermique. Ces chutes brutales de la température interne rappellent la description faite par la commission portugaise d'une hypothermie pré terminale pouvant descendre à 25 °C (Anonymous, 1902a). Elles sont aussi rapportées par Collomb (1958) et Collomb et al. (1958), bien que l'hypothermie soit moins ample (34-35 °C).

Les adénopathies ont généralement disparu à ce stade. Cependant, des poussées d'adénopathies se voient à la base du crâne ou dans les territoires cervicaux latéraux, précédant la survenue de flambées encéphalitiques. La rate a repris une taille normale.

Le prurit est souvent devenu intense, en rapport avec l'atteinte nerveuse. Les lésions de grattage sont caractéristiques.

2.2.4.2. Les signes neurologiques à proprement parler

Les réflexes archaïques, traduisant une atteinte du tronc cérébral, sont présents naturellement chez le nourrisson, mais pas chez l'adulte (palmo-mentonnier, polico-mentonnier, péri-oral ou de succion). Ils sont fréquemment observés dans la THA à *T. b. gambiense* (Boa et al., 1988).

Les troubles de la sensibilité profonde sont sans doute dus à l'atteinte du thalamus et des ganglions sensitifs des racines postérieures. Le signe le plus connu est le signe de Kérandel (1910). Mais l'hyperesthésie est précoce et touche tous les territoires. Le simple fait de se cogner induit une douleur profonde violente. En pratique, les

populations rurales se plaignent de douleurs dorsales ou lombaires, de paresthésies des extrémités, de crampes et d'une hyperesthésie. L'examen des malades ne révèle pas de signe objectif. Par ailleurs, aucun autre signe sensitif n'est mis en évidence.

L'ataxie rappelle une atteinte cérébelleuse. Depuis les observations faites au 19e siècle, la démarche des patients est décrite comme incertaine, trébuchante, titubante, en un mot ébrieuse. Mais les autres signes cérébelleux sont absents.

Les tremblements sont également fréquemment décrits. Ils ne s'apparentent pas aux tremblements cérébelleux ou parkinsoniens. Ils changent sans cesse de place. Débutant aux extrémités, ils peuvent se généraliser brusquement, secouant une partie de membre, un membre voire le tronc. Les tremblements de la langue sont particulièrement décrits, notamment par les auteurs du 19e siècle.

Les anomalies du mouvement sont fréquentes. Rarement, les mouvements sont choréïformes, de type parkinsonien (Borremans et van Bogaert, 1933), ou encore cérébelleux (Janssen et van Bogaert, 1956). Plus souvent, le patient assis oscille doucement, des gestes brusques surviennent avec mouvement d'un membre ou haussement des épaules. Les lèvres sont animées de mouvements de succion, de mâchonnement (Collomb, 1958). Des myoclonies surviennent, intéressant un segment de membre. Lors du sommeil, plusieurs auteurs ont remarqué des mouvements périodiques des membres inférieurs (Monge-Strauss, 1996). Les mouvements sont également maladroits, parfois hésitants, disharmonieux. L'épreuve des oreilles de Mickey (pouce sur la tempe, mouvement tournant et alternatif d'avant en arrière et d'arrière en avant des mains ouvertes) devient difficile à réaliser. Le mouvement d'une main s'accompagne d'extension du tronc et de la tête en arrière, comme si tout le corps devait participer au mouvement (épreuve réalisée par le Dr. Philippe Tapie lors d'investigations communes avec Buguet en Côte d'Ivoire en 1995 et 1996).

Une hémiparésie, plutôt qu'une hémiplégie vraie, signe la présence de lésions inflammatoires infiltrantes ou de démyélinisation de la substance blanche du centre ovale (Bisser, 2001). L'hypertension intracrânienne, quand elle existe, révélée par l'examen du fond d'œil, peut exacerber le tableau clinique (Zola et al., 1994). Une

vraie paralysie radiculaire, une polynévrite ou une paralysie nerveuse isolée ont été décrites (Collomb et al., 1968).

Les manifestations oculaires se rencontrent chez les trypanosomés, sans qu'on puisse affirmer qu'elles sont dues à la THA. Les troubles oculaires décrits intéressent surtout la papille et le nerf optique : images de stase, d'œdème papillaire, névrite oedémateuse, papillite, névrite rétrobulbaire, avec ou non des lésions choroïdiennes (Martin et Darré, 1908b ; Martin et Darré, 1909 ; Collomb, 1958 ; Zola et al., 1994).

2.2.4.3. Les troubles psychiques, troubles du comportement et symptomatologie psychiatrique

Dans leur revue volumineuse, Martin et Ringenbach (1910) trouvent un malade sur 6 présentant des troubles psychiques. Ainsi, parmi leurs 309 trypanosomés, ils dénombrent 18 aliénés dangereux, 7 déments mélancoliques, 26 confusions mentales. Ils séparent leur travail en neuf chapitres : troubles psychiques élémentaires, confusion mentale et démence, délire onirique (excitation, coups et blessures, impulsions au suicide, au vol, à l'incendie,à l'homicide), dromomanie et fugues, épidémie de folie trypanosomiasique, troubles psychiques et psychoses des Européens trypanosomés, crimes et délits.

Ces symptômes sont liés à l'existence d'une encéphalite diffuse mais il existe des différences d'expression liées aux habitudes socio-culturelles. Souvent, l'entourage décèle les premiers changements avec l'apparition d'une indifférence, de difficultés de concentration, d'une tendance à la somnolence diurne et à l'insomnie nocturne. Mais, ces changements sont progressifs et peuvent demeurer longtemps inaperçus. La distinction est classique entre des formes purement psychiatriques avec des troubles de l'humeur, une labilité émotionnelle, des tendances agressives et revendicatrices, des comportements anti-sociaux, et en alternance avec des épisodes d'apathie, de nonchalance interrompus par des accès impulsifs. Certaines formes se manifestent par des accès maniaques, de mélancolie ou de délire avec des thèmes de grandeur, de persécution ou de mysticisme. Ces manifestations peuvent être inaugurales de la THA ou au contraire apparaître bien après le diagnostic voire après le traitement

(Dumas et Girard, 1979). La rupture avec le mode de fonctionnement et de vie habituels du sujet peut représenter un signe précoce. Malgré tout, les fonctions intellectuelles sont longtemps conservées, une démence n'apparaissant que dans les stades terminaux. « Au niveau psychique, on peut parler d'un déséquilibre affectif et moral précoce faisant penser à un dysfonctionnement du dispositif régulateur du psychisme plutôt que le mécanisme proprement dit » (Gallais, 1942).

2.2.4.4. – L'atteinte du cycle veille-sommeil

Les troubles du sommeil ont donné son nom à la THA. Au 19e siècle, ils ont d'abord été décrits par les médecins missionnaires britanniques travaillant en Sierra Léone. Dans sa description succincte des troubles du sommeil chez quatre patients, Robert Clarke (1840) fait du besoin irrésistible de se laisser aller au sommeil un symptôme central de la maladie. En 1861, la description des troubles du sommeil devient plus précise, Nicolas, chirurgien de la marine aux Antilles, considérant que « la maladie du sommeil est caractérisée exclusivement par les manifestations physiologiques du sommeil se prolongeant au-delà de ses limites normales ». La maladie débute par la chute des paupières et le besoin de dormir plus ou moins impérieux. Il qualifie les épisodes de sommeil « d'accès » de sommeil, en dehors desquels le sujet ne paraît pas malade, conservant seulement la semi occlusion des paupières. « Peu à peu les accès se rapprochent et se confondent ». « Bientôt ils ne s'éveillent réellement plus », dormant « dans les positions les plus diverses ». Il propose le nom de somnolence déjà donné par les Portugais.

Pour Carles (1963), médecin au service de l'immigration pour les colonies françaises des Antilles, les troubles du sommeil sont le seul symptôme de la maladie. Il s'inspire en fait des travaux de Dangaix (1861) et inscrit son observation dans leur cadre.

En Martinique, Guérin (1869) décrit pour la première fois des attaques de sommeil qui se reproduisent « avec la même violence impérieuse ». Il décrit notamment deux attaques survenant alors que le malade est en position assise sur le bord du lit, les jambes pendantes : « Les paupières s'affaissent, la tête s'incline en avant, la face tournée vers le sol, le tronc se projette en avant et le sommeil devient profond ». Le

sommeil de jour dure des heures et se prolonge par de la somnolence. Le sommeil nocturne est plus rafraîchissant, calmant les céphalées. Le sommeil survient souvent au cours des repas, le patient s'endormant même la bouche pleine.

Lors de son voyage au Sénégal où il parcourt les villages atteints de la maladie du sommeil (Corre, 1877a), Corre (1877b) décrit un sommeil irrésistible, survenant parfois brusquement au milieu du travail ou des divertissements. La somnolence devient plus fréquente et prolongée, ou remplacée par une grande hébétude. L'auteur dit qu'elle n'est pas rigoureusement constante.

La première description très précise des troubles de la répartition nycthémérale du cycle veille-sommeil dans la THA remonte au 14 novembre 1890 par la présentation de Stephen Mackenzie devant la Clinical Society of London du cas d'un jeune Noir de 22 ans père de 2 enfants, né et élevé dans l'Etat indépendant du Congo. Son intervention, rapportée par le British Medical Journal (Anonymous, 1890), reprise par le Mercredi Médical (Anonyme, 1890), fut rapidement suivie d'un article dans The Lancet (Mackenzie, 1890a) et dans le British Medical Journal (Mackenzie, 1890b). Le patient dormait souvent, mais peu de temps à la fois, aussi bien la nuit que le jour, de sorte que la durée totale de son sommeil ne dépassait pas le chiffre moyen des individus bien portants (« he had many little sleeps in the daytime, but rarely slept for long together either by night or day, so that the total amount of sleep did not exceed the amount usually taken by healthy people »). Mackenzie conclue sur une affection du système nerveux central, opinion accueillie favorablement par Manson. Malgré cette description correspondant parfaitement à ce que nous savons aujourd'hui depuis l'usage de la polysomnographie, la maladie du sommeil a gardé, à tort, une connotation d'hypersomnie, lui valant son nom (Griffon du Bellay, 1864), bien que cette impression vienne sans doute du fait que les patients, contrairement au personnel soignant, sont « somnolents le jour et agités la nuit » (« somnolent by day and restless by night » ; Manson-Bahr, 1946). Le caractère particulier de la répartition nycthémérale du sommeil et de la veille décrit par Mackenzie aurait pu faire penser à un trouble des rythmes biologiques. Cependant, la chronobiologie est une science très récente qui est réellement née en 1959 lorsque Halberg (Halberg et al., 1959) donna la

définition des rythmes circadiens, c'est-à-dire de rythmes dont la période est d'environ 24 heures. Par ailleurs, c'est la même année que Michel Jouvet individualisa le sommeil paradoxal (Jouvet et al., 1959).

Au début du 20e siècle, le seul auteur à vraiment décrire les troubles du sommeil est Lhermitte (1910), neurologue parisien. Au début de la période d'infection méningée, les crises narcoleptiques paraissent survenir surtout au moment des repas ou immédiatement après. « Ainsi qu'il en est dans les différentes narcolepsies, l'invasion du sommeil peut être brutale, instantané ; s'il survient au cours d'une conversation, le malade s'endort sans achever la phrase commencée ; au cours d'un repas, le sujet s'endort la bouche pleine ; la tête s'incline sur la poitrine, le sommeil est complet sans raideur, sans aucun spasme. Il est possible, au cours des premières attaques, de tirer le malade de sa somnolence par des excitations violentes et répétées ; mais lorsque les crises se sont renouvelées fréquemment, le sommeil devient plus profond et toute tentative pour éveiller le dormeur reste impuissante. ». Puis le syndrome neurologique s'aggrave. « A partir de ce moment, la maladie fait de rapides progrès. Les crises de sommeil se renouvellent plusieurs fois par jour et prennent le malade dans n'importe quelle position, même au cours de l'exécution d'un mouvement simple et rapide, comme dans le fait de Nicolas, qui se rapporte à un malade qui, pressé de boire, n'eut pas le temps d'approcher le verre de ses lèvres qu'il était déjà endormi. Plus tard, les crises de sommeil se rapprochent, deviennent subintrantes, et le malade est plongé dans une somnolence continue dont rien ne peut le tirer. ». Puis, le patient entre dans la phase terminale de cachexie marasmatique, au cours de laquelle, « insensiblement, le sommeil se transforme en coma dont la durée peut se prolonger durant deux ou trois jours. ».

Cette description des narcolepsies de la maladie du sommeil, en décrivant les troubles de la structure interne du sommeil, complète celle de l'altération de l'alternance nycthémérale de la veille et du sommeil faite par Mackenzie (1890). Cependant, ces travaux furent vite oubliés, sans doute devant l'urgence à répondre par des méthodes incisives pour faire face aux développements cataclysmiques de l'épidémie. Nous le verrons, ce n'est qu'en 1989 que la polysomnographie réalisée par notre équipe

(Buguet et al., 1989) chez des patients au stade neurologique devait permettre de reprendre ces descriptions par l'étude objective et non plus subjective du sommeil et de l'éveil.

2.2.4.5. - Dysfonction endocrinienne

Les troubles endocriniens sont de tous types, leur précocité pourrait être un marqueur de l'envahissement cérébral et cet aspect sera étudié plus en détail dans un autre chapitre. Les descriptions classiques retrouvent des dysfonctions génitales (impuissance, aménorrhée, stérilité), thyroïdiennes (myxoedème, perte de l'homéostasie thermique) et de la nutrition (boulimie, inappétence) (Noireau et al., 1988 ; Hublart et al., 1988).

Les prélèvements sanguins recueillis chez les mêmes patients que ceux de l'étude du sommeil (Daloa et Brazzaville) ont été analysés pour déterminer l'atteinte éventuelle des rythmes circadiens des hormones étudiées : le cortisol, la prolactine, la rénine et la mélatonine. Le choix de ces hormones a été dicté par leur relation aux rythmes circadiens et au sommeil.

2.2.4.5.1. – Influences circadiennes sur les sécrétions endocrines

Les hormones dont le rythme circadien est peu influencé par le sommeil

Elles sont représentées par le cortisol (Follenius et al., 1991) et la mélatonine. La sécrétion de ces hormones est sous l'influence d'un oscillateur circadien endogène.

La sécrétion de cortisol est indépendante du cycle veille-sommeil. Cependant, les épisodes sécrétoires du cortisol sont en relation inverse avec la survenue des épisodes de sommeil lent profond (Follenius et al., 1991).

La mélatonine influence l'organisation circadienne de l'homme (Cassone, 1990 ; Krause et Dubocovich, 1990). Elle est sécrétée par la glande pinéale sous l'influence de la stimulation sympathique provenant du ganglion cervical supérieur, lui-même sous l'influence de l'alternance lumière-obscurité par l'intermédiaire du faisceau rétino-hypothalamique qui fait relais au niveau du noyau suprachiasmatique. De là, l'information gagne la colonne *intermedio lateralis* de la moelle épinière par

l'intermédiaire du noyau paraventriculaire. La mélatonine est sécrétée la nuit et est inhibée par la lumière. Elle agirait sur le sommeil non pas en qualité d'hypnotique vrai, mais plutôt en changeant les caractéristiques temporelles de l'alternance veille-sommeil (Arendt et al., 1984 ; Sack and Lewy, 1988) et d'autres rythmes circadiens tels que celui de la température corporelle (Lewy et al., 1991 ; Cagnacci et al., 1992). Il est vraisemblable que les effets sédatifs de la mélatonine soient dépendants du moment de la journée auquel elle est administrée : ils se manifestent le jour, quand la mélatonine circulante est faible, et ne surviennent pas la nuit, lorsque son taux plasmatique est au plus haut (Dawson et Encel, 1993).

Les hormones fortement influencées par le cycle veille-sommeil

Le type en est la prolactine, dont la sécrétion est littéralement « accrochée » au sommeil. Elle se décale immédiatement lors d'un déplacement temporel du sommeil (Sassin et al., 1972 ; Spiegel et al., 1994). Les épisodes sécrétoires de prolactine sont réduits transitoirement pendant le sommeil paradoxal (Spiegel et al., 1994).

Les hormones en étroite relation avec un stade de sommeil

Le troisième type de relation avec les rythmes circadiens et le cycle veille-sommeil est représenté par les hormones dont la sécrétion est en étroite liaison avec un stade de sommeil. C'est le cas de la sécrétion de rénine (Brandenberger et al., 1988) et aussi de celle de l'hormone de croissance (Holl et al., 1991), qui sont liées au sommeil lent profond.

L'activité rénine plasmatique augmente lors des épisodes de sommeil lent profond. Au contraire, le sommeil paradoxal ne survient que lorsqu'elle diminue.

La relation entre le sommeil et l'hormone de croissance est maintenant bien établie. Elle est constante d'une nuit à l'autre chez un même sujet (Parker et al., 1969 ; Sassin et al., 1969 ; Takahashi et al., 1968). Elle persiste lorsque le sommeil est retardé (Takahashi et al., 1968), lorsqu'il est déplacé de 12 heures (Sassin et al., 1969) ou encore dans le modèle du décalage horaire (Golstein et al., 1983). La forte liaison entre la sécrétion d'hormone de croissance et les épisodes de sommeil lent profond est largement supportée par les travaux de Holl et al. (1991). Ces auteurs ont analysé la sécrétion d'hormone de croissance toutes les 30 secondes et ont ainsi pu montrer

que les taux plasmatiques hormonaux sont quatre fois plus élevés pendant le sommeil lent profond que pendant les autres stades de sommeil et l'éveil. Ils ont également mis en évidence un retard de 16 minutes de la sécrétion hormonale par rapport au sommeil lent profond.

2.2.4.5.2. – Modifications de la relation hormone / cycle veille-sommeil (Buguet et al., 2004 ; 2005)

Le cortisol

Dans la THA au stade de méningo-encéphalite, l'atteinte du rythme circadien du cortisol est proportionnelle à la sévérité des signes de la maladie. Chez les trois patients de Daloa les plus atteints, le rythme circadien de la sécrétion du cortisol est aboli (Radomski et al., 1995). L'atteinte est intermédiaire chez les patients à un stade moins évolué de méningo-encéphalite. En comparaison, les sujets sains investigués à Yopougon montrent une répartition circadienne de la sécrétion de cortisol comparable à celle de sujets sains Caucasiens examinés en France (Goichot et al., 1995). L'analyse des prélèvements sanguins effectués à Brazzaville à 10 minutes d'intervalle a confirmé la disparition du rythme circadien du cortisol. Elle a permis de préciser que, bien qu'il n'existe plus de rythme circadien de l'amplitude des pics de sécrétion, la pulsatilité hormonale persiste et garde ses relations avec les états de sommeil (Brandenberger et al., 1996) : le sommeil lent profond reste associé aux phases de diminution des pics de sécrétion. Cette atteinte de la rythmicité circadienne de l'amplitude des pics de cortisol semble unique en pathologie. En effet, les perturbations durables du cycle veille-sommeil, telles qu'elles sont observées dans la narcolepsie ou le coma prolongé, n'affectent pas le rythme circadien du cortisol (Higuchi et al., 1979 ; Sack et al., 1983 ; Vogel et al., 1990).

La prolactine

La prolactine est également associée aux longs épisodes de sommeil chez les sujets africains sains, suivant la classique augmentation de la sécrétion de prolactine lors des épisodes de sommeil (Sassin et al., 1972 ; Sassin et al., 1973 ; Spiegel et al., 1994). Chez les patients les plus gravement touchés, la sécrétion de prolactine ne

présente plus l'augmentation liée au sommeil (Radomski et al., 1995). Chez les patients moins atteints, les taux plasmatiques de prolactine sont élevés dans la journée. Leur augmentation nocturne est atténuée, reflétant l'étirement de la durée globale du sommeil sur tout le nycthémère. Cette disparition de la relation entre la sécrétion de prolactine et le cycle veille-sommeil est attribuée à l'accélération de l'alternance veille-sommeil et à la fragmentation excessive du sommeil. Elle démontre que la rythmicité de la sécrétion de cette hormone est liée à la survenue d'épisodes de sommeil de longue durée (Brandenberger et al., 1996).

La rénine

Comme chez le sujet caucasien sain, l'activité rénine plasmatique des sujets sains examinés à Abidjan augmente pendant le sommeil orthodoxe, surtout au cours du sommeil lent profond, et diminue au cours du sommeil paradoxal, ce qui en fait un marqueur du cycle veille-sommeil (Goichot et al., 1995). Chez les patients atteints de THA, les oscillations sécrétoires sont distribuées sur tout le nycthémère, sans différence dans la fréquence des pics de sécrétion entre la nuit et le jour (Brandenberger et al., 1996). Cependant, la relation entre la sécrétion de rénine et le cycle veille-sommeil persiste, sauf lorsque le sommeil est instable, trop fréquemment interrompu par des éveils intercurrents. Cette interprétation est supportée par le fait que la fragmentation du sommeil des narcoleptiques est associée à une atténuation des oscillations de l'activité rénine plasmatique (Schulz et al., 1992).

L'hormone de croissance

Un autre exemple de maintien de la relation entre sécrétion hormonale et sommeil est également donné par la sécrétion de l'hormone de croissance. Malgré une dérégulation circadienne, elle augmente en relation avec les épisodes de sommeil lent profond (Radomski et al., 1996).

La mélatonine

Contrairement aux rythmes hormonaux précédents, la sécrétion de mélatonine est peu perturbée chez les patients, restant voisine de celle des sujets sains (Claustrat et al., 1994 ; Claustrat et al., 1998). Chez les patients, par rapport aux sujets africains sains, l'amplitude et le mésor de la sécrétion de mélatonine sont restés normaux. Cependant,

l'acrophase de la sécrétion de mélatonine est survenue avec 2 heures d'avance. Une telle avance serait un marqueur d'une diminution de l'activité des neurones sérotoninergiques du système du raphé pontique (Buguet, 1999 ; Buguet et al., 2001b ; Claustrat et al., 1998).

2.2.5. - Le stade terminal : l'encéphalite démyélinisante

Cette phase terminale est inéluctable sans traitement. Les troubles de la conscience s'accentuent, la démence s'installe accompagnée d'incontinence et de crises épileptiques. L'individu devient grabataire, cachectique et la mort peut survenir à tout instant. En cas de traitement, les séquelles neurologiques sont importantes et la récupération lente. Il est important de noter précisément le tableau clinique de sortie pour pouvoir évaluer correctement la différence entre une rechute ou l'évolution d'une séquelle lors des contrôles post-thérapeutiques.

2.2.6. - Les formes cliniques

Chez l'adulte, il faut se souvenir de l'extrême polymorphisme des signes cliniques qui ne sont pas toujours corrélés aux données biologiques du LCR. Il existe des porteurs chroniques ou porteurs sains chez qui il a été possible de mettre en évidence des trypanosomes pendant de nombreuses années sans voir se développer une pathologie (Lapeyssonnie, 1960). Chez les européens, les symptômes sont probablement plus aigus (Kerandel, 1910).

Chez les enfants, le tableau clinique est très variable également mais la fréquence des symptômes neurologiques à type de mouvements anormaux, d'hypotonie, de troubles du sommeil ou de troubles de la conscience est plus élevée (Cramet, 1982, Millogo et al., 1999). L'intrication des signes des 2 stades de la maladie est fréquente (Koko et al., 1997). L'enfant se présente plus souvent avec des troubles du comportement accompagnés d'agitation psychomotrice. Les séquelles sensorielles, sensitivo-motrices mais également intellectuelles sont plus fréquentes (Triolo et al., 1985). La transmission congénitale de la maladie est sans doute possible par contamination transplacentaire (Rocha et al., 2004).

2.2.7. – Importance relative des symptômes

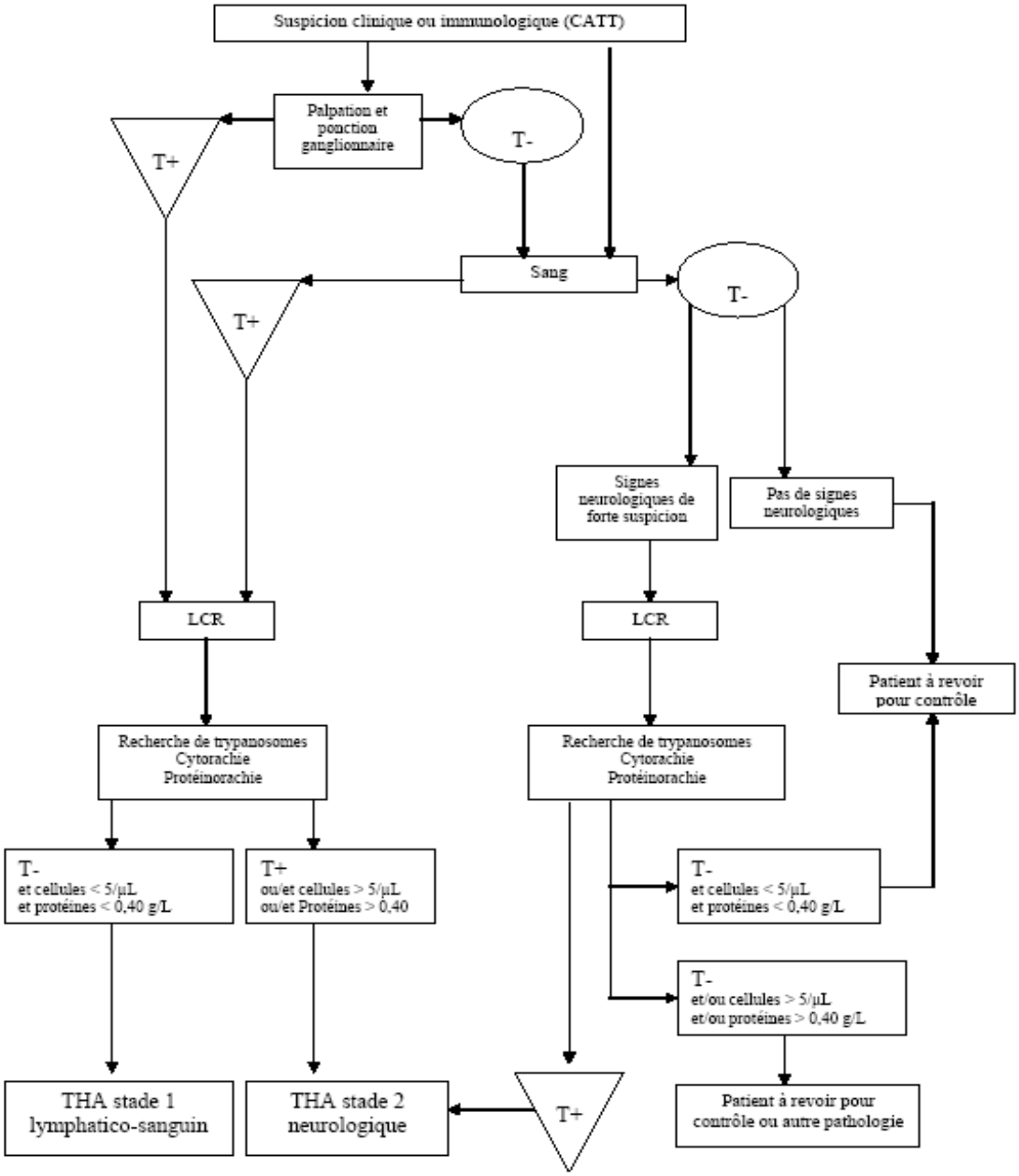
Depuis quelques années, la recherche s'est penchée à nouveau sur les aspects cliniques de la THA. Blum et al. (2006) rapportent une étude multifocale sur une cohorte importante de 2 541 patients au stade 2 de la maladie provenant de sept pays différents. Il s'agit de la plus grande série présentée dans la littérature. Cependant, le diagnostic de stade variait d'un pays à un autre avec des seuils diagnostiques différents pour le comptage cellulaire (stade 2 considéré quand cytorachie >5 cellules/µL, ≥10 cellules/µL ou ≥20 cellules/µL). Une autre source de variation provenait de la méthode diagnostique de la THA (détection du parasite dans 81,7 % des cas ; ou sérologie CATT positive accompagnée d'un comptage cellulaire et d'un tableau clinique « caractéristiques »). Les auteurs, dans une comparaison exhaustive de la littérature, présentent un tableau des signes cliniques (Tableau 2 de leur article) en comparant les proportions concernant chaque signe avec leurs propres observations. Il apparaît que les signes les plus fréquemment rencontrés sont les troubles du sommeil, liés à la durée de la maladie et au nombre de lymphocytes dans le LCR, et les céphalées, suivis de près par les adénopathies et la splénomégalie. Mais il semble bien que la sensibilité professionnelle des auteurs des analyses cliniques influe considérablement sur les chiffres présentés. Ainsi, les réflexes archaïques sont fréquents pour les neurologues (Giordano et al., 1977) et rares pour les généralistes (Ginoux et al., 1982). Des symptômes comme le prurit sont influencés par d'autres parasitoses tropicales, expliquant la variabilité des observations recensées. En conclusion, les diverses études conduites sur les signes cliniques de la THA, leur fréquence et leur proportion sont encore aujourd'hui peu fiables. Il conviendrait d'harmoniser les examens cliniques des patients (Bisser, 2001) en définissant parfaitement les différents symptômes retenus.

3. – Le diagnostic biologique

La suspicion de maladie du sommeil peut certes être fondée sur des signes cliniques (mais la THA est souvent difficile à reconnaître car il n'y a pas de signe clinique pathognomonique), des signes biologiques non spécifiques (comme l'augmentation du taux sérique des immunoglobulines) ou encore des signes immunologiques plus spécifiques adaptés au dépistage de masse. Cependant, ces signes ne peuvent être considérés que comme une évidence indirecte de l'infection par le trypanosome (Büscher et Lejon, 2003). Le diagnostic ne peut être affirmé que si les signes de suspicion sont confirmés par la mise en évidence de trypanosomes dans le sang ou dans la lymphe. Pour Pierre Cattand (1999 ; communication personnelle de P. de Raadt à A. Buguet), la recherche directe de parasites dans le sang au cours de dépistages de masse est souvent décevante, en raison de faux négatifs dus aux vagues de parasitémie. Il est alors nécessaire d'employer des méthodes de concentration des trypanosomes. Alors que la seule façon de diagnostiquer la maladie est de démontrer la présence de parasites chez l'hôte humain (Bouteille, 2002), des méthodes indirectes telles que la détection d'anticorps ou d'antigènes circulants sont utiles pour établir une suspicion et, dans les dépistages de masse, pour la présélection de sujets susceptibles d'être infectés. Cette approche réduit la charge de travail et le coût de la surveillance. Le but est de différencier les cas confirmés des cas suspects et des sujets non infectés. D'où la nécessité d'établir un arbre décisionnel déterminant la succession des choix de tests à effectuer (exemple donné dans le schéma réalisé par B. Bouteille.

Une fois établie la réalité de l'infection par le trypanosome, il convient de pratiquer le diagnostic de phase ou de stade. Celui-ci est indispensable, car les médicaments du stade méningo-encéphalitique sont très toxiques et/ou difficiles à administrer. Il faut donc faire en sorte qu'ils ne soient donnés qu'aux patients devant en bénéficier. Aujourd'hui comme depuis la découverte de trypanosomes dans le LCR par Castellani (1903b ; 1903c ; 1903d), le diagnostic repose sur l'examen du LCR. Dès 1908, en effet, Broden et Rhodain (1908a) distinguent d'une manière plus précise les

deux stades de la maladie selon que le LCR est normal ou altéré. La présence de trypanosomes dans le LCR et les réactions induites par cette présence sont alors recherchées.



Exemple d'arbre décisionnel dans le diagnostic de la trypanosomose humaine africaine.

3.1. - Le diagnostic de trypanosomose

3.1.1. – Les examens sérologiques

Un certain nombre de techniques biologiques ont été, sont et seront proposées pour améliorer le dépistage de masse sur le terrain, bien qu'au début de l'infection à *T. b. gambiense*, il soit difficile de mettre en évidence le trypanosome ou les réactions du système immunitaire. Ces techniques sont évaluées (Noireau et al., 1987) en termes de sensibilité (rapport du nombre de trypanosomés positifs au test au nombre total de personnes testées multiplié par 100), de spécificité (rapport du nombre de sujets sains négatifs pour le test au nombre total de sujets sains testés x100), de valeur prédictive d'un résultat positif (rapport du nombre de trypanosomés positifs au test à la somme des patients et des sujets sains positifs pour le test multiplié par 100) et de valeur prédictive d'un résultat négatif (rapport du nombre de sujets sains négatifs pour le test à la somme des patients et des sujets sains négatifs pour le test multiplié par 100). Aujourd'hui, les besoins les plus importants sur le plan médical en Afrique sont la recherche de nouveaux tests pour le diagnostic de deux maladies tropicales négligées, la THA et la leishmaniose viscérale (Mabey et al., 2004). Pour tous les tests mis au point, il faut vérifier la spécificité, la reproductibilité et la sensibilité. Le diagnostic de THA sur le terrain n'a que peu progressé dans les dernières décades (Brun et Balmer, 2006).

Les tests sérologiques appliqués à la THA dérivent de la réaction antigène-anticorps due à l'interaction entre les épitopes de l'antigène et les paratopes de l'anticorps. Elle fait intervenir quatre types de liaisons non covalentes (des liaisons hydrogène, des liaisons électrostatiques, des liaisons hydrophobes et les forces de Van der Waals). La réaction antigène-anticorps a deux grands types d'applications : la détection et le dosage des antigènes et la détection et le titrage des anticorps vis-à-vis d'un antigène ou d'un mélange d'antigènes.

La sérologie dans la forme à *T. b. rhodesiense* est peu efficace car les symptômes surviennent rapidement, en 10 à 12 jours, temps requis pour la production d'un niveau suffisant d'anticorps pour que la réaction utilisée soit positive. De toute façon,

il n'y a pas de test sérologique de qualité dans cette forme, sauf peut-être l'immunofluorescence. De nombreuses réactions négatives sont donc rencontrées dans cette forme de la maladie.

Les examens immunologiques ne permettent pas de révéler directement le parasite, mais mettent en évidence la production par le sujet d'anticorps plus ou moins spécifiques suivant l'antigène utilisé (Carrié et al., 1980). Ces examens ont pour but la sélection, parmi toute la population d'une zone d'endémie, de suspects chez lesquels on tentera, avec les techniques parasitologiques disponibles, de mettre en évidence le parasite. C'est pourquoi les recherches s'orientent, depuis quelque temps déjà, vers la mise au point d'un test immunologique aussi sensible (absence de faux négatifs), aussi spécifique (absence de faux positifs), aussi reproductible et aussi simple que possible de manière à pouvoir être mis en oeuvre sur de grandes séries tout en restant fiable. Il convient donc d'écarter les altérations biologiques non spécifiques liées au processus inflammatoire.

3.1.1.1. La détection des immunoglobulines (IgM)

La détection des immunoglobulines est une des avancées de la recherche des années de l'après guerre. Après la découverte d'un ratio de 3:1 pour les IgM par rapport aux IgG dans la THA (McKelvey et Fahey, 1965), Mattern et al. (1965), à l'Institut Pasteur de Dakar, ont trouvé que 97 % de leurs 234 patients atteints de maladie du sommeil et porteurs de trypanosomes montraient une augmentation de la concentration en IgM. Mattern (1968) rapportait alors des taux sanguins de gamma-macroglobuline dans le sang quatre fois plus élevés que les taux normaux.

Au laboratoire, le dosage des IgM est réalisé par immunodiffusion radiale selon la méthode de Mancini (Mancini et al., 1965). Cette méthode consiste à incorporer un antisérum spécifique dans la gélose et à déposer la solution d'antigène dans des puits. A l'équilibre se forme un anneau de précipitation dont le carré du diamètre est proportionnel à la concentration de l'antigène. La concentration est exprimée par référence à une courbe standard avec un antigène de concentration connue. La technique est complexe et longue et ne peut pas être utilisée sur le terrain.

Rey et Frézil (1971) ont évalué la détection des IgM par les méthodes immunologiques de Carrié et Dutertre sur des prélèvements de sang séchés sur papier filtre (confettis). La méthode de Dutertre, dérivée de la technique de Mancini, consiste à placer les confettis sur une plaque couverte de gélose imprégnée de sérum anti-IgM. Le test est positif lorsque, après une coloration au Noir Amido, apparaît une auréole de précipitation autour du confetti. En pratique, on considère comme positives toutes les auréoles qui dépassent un carré de 5 mm de côté. Cette méthode comporte des cas limites difficiles à identifier comme positifs, les erreurs pouvant atteindre un quart des mesures. La méthode de Carrié (méthode des arcs dérivée de la méthode d'Ouchterlony ; Carrié et al., 1980) consiste à placer les confettis autour d'un godet creusé dans la gélose et rempli de sérum anti-IgM. Lorsque la réaction est positive, un arc apparaît autour des zones de diffusion. Ici aussi, l'interprétation peut être difficile.

Un dosage plus précis des IgM sériques (et d'autres protéines d'ailleurs) par néphélémétrie n'est pas réalisable dans les conditions habituelles des régions endémiques pour la THA.

3.1.1.2. - Les tests de détection des anticorps spécifiques des trypanosomes

Un certain nombre de techniques utilisées pour la détection d'anticorps spécifiques des trypanosomes font appel à la réaction d'agglutination. Celle-ci met en présence des antigènes sur un élément figuré (cellules, érythrocytes, particules, bactéries) et un antisérum contenant des anticorps spécifiques agglutinants. D'autres techniques visent à détecter les anticorps en réponse à la présentation d'un groupe d'antigènes ou du parasite entier.

3.1.1.2.1. - Les tests d'agglutination

L'auto-agglutination des hématies est non spécifique de la THA. Ce n'est pas à proprement parler un test d'agglutination. Il a été proposé dès le début du 20e siècle (Dutton et al., 1904 ; Martin et al., 1909b ; Todd, 1908 ; Dubois, 1912), mais ce test simple a été sous-utilisé, voire oublié. Il a été réévalué en 1991 par Noireau et al.

(1991b), qui lui ont trouvé une sensibilité élevée (91 %) et une importante valeur prédictive d'un résultat négatif (99 %). Mais l'absence de spécificité du test fait sa faiblesse, Todd (1910) et Dubois (1912) ayant observé fréquemment l'auto-agglutination des hématies chez des sujets sans maladie du sommeil.

L'agglutination directe ou Card Agglutination Trypanosomiasis test (CATT)

Le Card Agglutination Trypanosomiasis test (CATT) repose sur la détection sérologique d'anticorps pour un type dominant d'antigène variant (variant antigen type, VAT) de la glycoprotéine variante de surface (variant surface glygoprotein, VSG). L'antigène du CATT est constitué de *T. b. gambiense* LiTat 1.3 purifiés sur colonne DEAE (diethylamino éthanol) cellulose, fixés au formaldéhyde, colorés au bleu de Coomassie et lyophilisés (Magnus et al., 1978b). Le test, initialement validé chez 155 patients infectés par *T. b. gambiense* comparés à 247 sujets sains et 54 patients porteurs d'une autre parasitose, est fourni par l'Institut de médecine tropicale Prince Léopold d'Anvers. Il est d'abord réalisé sur une goutte de sang total (25 µL) collecté sur un tube capillaire hépariné et placée sur une carte plastifiée où elle est mélangée avec le réactif dans un cercle de 18 mm de diamètre tracé sur la carte. L'agglutination marquant l'existence d'un contact préalable du sujet avec le trypanosome est détectée sur la carte par simple lecture visuelle. Dans ces conditions, la sensibilité du test peut être affectée par un phénomène d'inhibition lié au complément et/ou par des réactions de précipitation d'origine immunitaire (Magnus et al., 2002). La sensibilité du CATT (de 92 à 100 %), sa spécificité (de 90 à 95 %) et la stabilité des réactifs sont constamment améliorés (Zillmann et Albiez, 1986 ; Noireau et al., 1986 ; Noireau et al., 1987 ; Jamonneau et al., 2000 ; Truc et al., 2002). Il est effectué sur sang total, sur sérum ou sur plasma directement ou après élution des liquides récoltés sur papier filtre. Ce test est couramment utilisé lors des dépistages. Inojosa et al. (2006) indiquent qu'en Angola, le CATT est utile en première intention pour dépister les malades sur le terrain. Cependant, ces auteurs, comme Simarro et al. (1999a) insistent sur le fait qu'étant donné la toxicité des médicaments disponibles, l'utilisation du CATT doit être complétée par des tests de confirmation parasitologique avant d'entreprendre un traitement.

Le CATT a permis de révolutionner le diagnostic de masse de la maladie. Mais bien qu'il soit très utile, le CATT a ses limites (Simarro et al., 1999a ; Garcia et al., 2000). De faux positifs peuvent être dus à une infection par des trypanosomes animaux ou des leishmanies. Les faux négatifs se rencontrent dans les infections trop récentes pour que leur hôte ait eu le temps de développer les anticorps spécifiques. Le CATT ne peut pas différencier les infections en cours des infections passées (Fèvre et al., 2006). Il ne peut donc pas être utilisé pour l'étude du suivi de l'efficacité thérapeutique (Fèvre et al., 2006). Egalement, certains *T. b. gambiense* n'expriment pas l'antigène spécifique et peuvent donc donner de fausses négativités (Dukes et al., 1992 ; Kanmogne et al., 1996 ; Enyaru et al., 1998). Enfin, le CATT ne fonctionne pas dans la maladie à *T. b. rhodesiense* (Enyaru et al., 1999), en raison de la plus grande variabilité génétique du parasite (Gibson et al., 2002), bien que l'adaptation au terrain d'un test d'agglutination sur carte semble possible (Akol et al., 1999). Le diagnostic de THA à *T. b. rhodesiense* doit donc être effectué cliniquement ou en employant des tests parasitologiques ou de biologie moléculaire (Fèvre et al., 2006).

Le CATT sur sérum peut donner lieu à un phénomène de prozone, qui peut être évité par l'addition de calcium, de magnésium et d'un chélateur l'éthylène diamine-tétra-acétate de sodium (EDTA) pour inhiber le complément (Pansaerts et al., 1998). Cette technique a été évaluée par Magnus et al. (2002) lors d'une étude de laboratoire et une étude de terrain multifocale. Les versions CATT-EDTA (supplémentation du tampon CATT par EDTA ou utilisation de l'EDTA comme anticoagulant) ont été plus sensibles de 7 % mais moins spécifiques de 1 à 2 % que le test conventionnel. Le tampon CATT supplémenté par l'EDTA est resté stable pendant au moins deux ans à 45 °C. Cette méthode est utilisable sur le terrain.

La titration est réalisée sur plasma ou sérum (Lutumba et al., 2006) : 30 µL de tampon CATT sont mélangés à 30 µL de plasma du suspect pour avoir la dilution ½ de ce mélange. Puis, 30 µL de ce mélange sont ajoutés à 30 µL de tampon CATT pour avoir la dilution ¼ et ainsi de suite jusqu'à la dilution 1/32. De chaque dilution de plasma, 25 µL sont prélevés et mélangés à 45 µL de réactif CATT sur la carte de réaction. La lecture est effectuée après 5 minutes d'agitation sur le rotateur CATT. En

Angola, entre 1999 et 2002, un test positif au 1/8 était considéré comme un signe d'infection, les patients étant alors traités comme si le trypanosome avait été mis en évidence (Stanghellini et Josenando, 2001). Cette stratégie a été récemment évaluée pour une prévalence de la THA de 10 %, Inojosa et al (2006) estimant qu'un seuil de dilution au 1/32 présente une valeur prédictive positive élevée (91 %) en cas de surveillance passive, en sachant que de nombreux cas réels de maladie sont ainsi délaissés. De fausses positivités faibles peuvent être détectées lors d'une infection à schistosomes, filaires ou toxoplasmes (Noireau et al., 1988a) ou encore dans 5 % des cas de paludisme récurrent (Kegels et al., 1992). Il est par ailleurs vraisemblable que des trypanosomes non pathogènes pour l'homme puissent donner de fausses positivités (Inojosa et al., 2006).

Une microméthode (micro-CATT) réalisée sur des échantillons sanguins recueillis sur papier filtre (Whatman n° 4 avec taches de sang de 3 cm de diamètre sur les deux côtés du papier filtre) a été proposée par l'Institut de médecine tropicale Prince Léopold d'Anvers pour économiser les réactifs (Noireau et al., 1991a ; Miézan et al., 1991). Ces auteurs ont montré que, dans un échantillon de 2083 personnes testées en Côte d'Ivoire, les 72 patients confirmés par l'examen parasitologique étaient détectés par cette microtechnique. Au Congo, Noireau et al. (1991a) trouvaient une sensibilité de 94,2 % et une spécificité de 100 %. Cependant, en raison de la faible quantité de réactif utilisé, le micro-CATT pouvait poser des problèmes de lecture et d'interprétation (Chappuis et al., 2002).

L'Institut de médecine tropicale d'Anvers a développé une nouvelle version du test sur papier filtre, le CATT-FP, qui a été utilisée et évaluée au Sud Soudan dans le comté de Kajo-Keji par Médecin sans frontières (Chappuis et al., 2002). L'évaluation a été faite en comparant les résultats obtenus avec le CATT sur plasma. La sensibilité de ce test a été de 91 %, étant moins sensible que le CATT sur plasma. La reproductibilité du test est excellente, même après 8 semaines, le test étant réalisé *a posteriori* à Anvers. Truc et al. (2002) ont évalué comparativement le micro-CATT (sensibilité : 89,3-90,0 % ; spécificité : 93,4-98,2 % ; valeur prédictive positive : 56,3-61 %), le CATT/*Trypanosoma brucei gambiense* sur sang total (sensibilité :

98,2-100 % ; spécificité : 94-96,7 % ; valeur prédictive positive : 43,5-65,5 %) et le LATEX/*T. b. gambiense* sur sang total (sensibilité : 67,9-90 % ; spécificité : 99-99,4 % ; valeur prédictive positive : 69,2-92,7 %). Ils notent une sensibilité plus importante des tests sérologiques en Côte d'Ivoire qu'en Centrafrique où le variant LiTat 1.3 pourrait bien ne pas exister (Dukes et al., 1992). Le micro-CATT donne de bons résultats quand il est réalisé le jour même de la prise de sang, confirmant les résultats de Miézan et al. (1991) et de Noireau et al. (1991a). Mais se pose alors la question d'utiliser la microméthode plutôt que le CATT sur sang total qui, par ailleurs, est le plus sensible des trois tests (Truc et al., 2002). Par ailleurs, le test est stable après stockage à sec (gel de silicate dans un sachet plastique scellé) pendant 14 jours à la température ambiante, sans différence avec les tests stockés au réfrigérateur. Bien que cette microtechnique puisse être préférée pour des raisons logistiques, elle est plus onéreuse que le CATT sur sang total malgré l'économie de réactif (Truc et al., 2002).

Les résultats obtenus en utilisant le CATT sur sang total et le CATT sur sérum ont été évalués chez 366 Congolais (95 patients atteints de THA confirmée parasitologiquement, 105 Congolais vivant à Brazzaville et 195 patients porteurs d'une filariose, de schistosomiase ou de toxoplasmose) en comparant les données à celles du test d'immunofluorescence indirecte (IFI) sur sang séché sur papier filtre ou sur sérum (Noireau et al., 1888a). L'IFI est plus sensible (IFI sur sérum, 94,7 % ; IFI sur confettis, 92 %) et plus spécifique (100 % pour les deux techniques) que le CATT sérum (sensibilité 91,6 % ; spécificité, 75,3 % chez les Bantous, 58,8 % chez les Pygmées) et *a fortiori* que le CATT sur sang total (sensibilité 82,5 % ; spécificité, 94,3 %). Les auteurs concluent qu'une IFI positive est pleinement fiable dans le diagnostic d'une infection à *T. b. gambiense* confirmant les données de Frézil et al. (1977) et de Duvallet et al. (1979). Cependant, le CATT présente un avantage certain sur le terrain, celui d'être aisément et rapidement réalisable.

Il faut insister sur le fait, qu'après traitement, la négativation du CATT ne constitue pas une preuve de guérison (Lejon et al., 2010).

En conclusion, Robays et al. (2004) insistent sur le fait que le CATT, pour être pleinement efficace, doit être intégré à un programme de dépistage bien coordonné. Le CATT, qui détecte l'infection par *T. b. gambiense* mais pas par *T. b. rhodesiense* n'est pas assez spécifique pour être utilisé comme test pour déterminer directement la stratégie thérapeutique à utiliser. Il y a donc nécessité de rechercher un test diagnostic plus spécifique qui puisse être mis en œuvre par un personnel n'ayant pas besoin d'une formation approfondie et pouvant fonctionner dans des villages isolés et reculés (Mabey et al., 2004).

Une nouvelle version du CATT, le CATT-D10, est mieux adaptée aux petits centres de santé. En effet, tout en gardant la même spécificité et la même sensibilité que le CATT classique (CATT-R250), elle se présente en kits de 10 tests avec des réactifs dont la thermostabilité est plus grande. Le CATT-D10 conserve ses caractéristiques après une exposition de 18 mois à des températures élevées ou à des variations de températures de grande amplitude (Hasker et al., 2010).

Le Latex/*T. b. gambiense* (Büscher et al., 1999) est une variante du CATT/*T. b. gambiense* avec des anticorps monoclonaux dirigés contre trois VAT (LiTat 1.3, 1.5 et 1.6). Sa spécificité est de 99 % et sa sensibilité entre 84 et 100 %. Afin d'établir la validité de ce test eu égard aux différences génétiques observées entre différentes souches de *T. b. gambiense*, l'évaluation de ce test a été faite dans divers pays en comparant les résultats avec ceux du CATT/*T. b. gambiense* : Simarro et al. (1999b) en Guinée équatoriale, Penchenier et al. (1998) au Cameroun, Jamonneau et al. (2000) en Côte d'Ivoire, Truc et al. (2002) en Côte d'Ivoire et en Centrafrique, comme indiqué ci-dessus, Penchenier et al. (2003) au Cameroun et en Centrafrique. Ces derniers auteurs précisent que, comparé au CATT/*T. b. gambiense*, la spécificité du Latex/*T. b. gambiense* est plus grande, que son utilisation permet de réduire la charge de travail, que son coût est moindre et que la lecture en est plus aisée.

Le test d'agglutination en microplaque (PATT, *procyclic agglutination trypanosomiasis test*) a été introduit pour la détection d'anticorps de *T. b. rhodesiense* et de *T. b. gambiense* dans le sang (Pearson et al., 1986 ; Liu et al., 1989). Ce test a été ensuite modifié en utilisant des trypanosomes fixés (MoPATT, *modified plate*

agglutination trypanosomiasis test) et est utilisé au Kenya sur *T. b. rhodesiense* (Ngaira et al., 1999). Ces tests nécessitent un environnement de laboratoire.

L'hémagglutination indirecte (Boné et Charlier, 1975), est pratiquée en mettant en présence des hématies saines sensibilisées et stabilisées avec des antigènes solubles purifiés, en présence de sérums dilués à tester. L'antigène soluble provient d'une souche de *T. b. gambiense* (Institut de médecine tropicale d'Anvers, souche Eliane) conservée au cryostat et passée sur rat. L'antigène est fixé sur des érythrocytes humains du groupe 0Rh- en présence de glutaraldéhyde. Les érythrocytes sensibilisés sont ensuite étalés en couche mince à l'intérieur de tubes capillaires à hématocrite (75 mm x 1,5 mm, volume 70 µL). Les capillaires sont refroidis rapidement par l'azote liquide et distribués en ampoules elles-mêmes lyophilisées et scellées sous azote. Les ampoules sont conservées à +4 °C. Le sang du sujet à examiner est prélevé sur tube capillaire à hématocrite, puis centrifugé pour séparer le sérum (30 µL par tube). Parallèlement un mL de diluant contenant de l'EDTA est placé dans un tube plastique dans lequel on fait tomber 30 µL de sérum (dilution 1:30). Puis des dilutions croissantes de sérum peuvent être réalisées. Le tube capillaire contenant les érythrocytes sensibilisés est rempli aux ¾ avec le sérum dilué et une extrémité est obturée par la plasticine ou par fusion du verre à la flamme. Puis les tubes sont déposés horizontalement pendant 15 minutes pour permettre la réaction antigène-anticorps. Les capillaires sont alors centrifugés à 2000 tours/min pendant 2 minutes. Les érythrocytes forment alors un culot d'environ un mm. Puis les capillaires sont placés sur un portoir incliné à 45°, le culot étant placé en haut. En l'absence d'anticorps, le culot se désagrège. La réaction positive est lue 15 minutes après : les érythrocytes restent agglutinés et le culot reste compact. Le test d'hémagglutination capillaire est en général négatif à la dilution 1:30 chez les sujets sains. Les auteurs vérifient la sensibilité du test chez 70 patients, tous positifs à la dilution 1:30, avec seulement 2 faux positifs chez des Africains polyparasités, aucune réaction positive n'étant notée chez 200 témoins en Europe.

L'agglutination des hématies peut être également réalisée sur un kit Cellognost (Boehringer, Mannheim ; Edeghere et al., 1985). Cette méthode Cellognost est

cependant considérée comme manquant de fiabilité (Lemesre et al., 1988), car, bien que sa sensibilité soit grande, elle nécessite l'intervention d'un technicien entraîné.

3.1.1.2.2. - Le test d'immunofluorescence indirecte (IFI, ou Indirect Fluorescent Antibody Test, IFAT) a été développé par Wéry et al. (1970). C'est grâce à une technique similaire que Lucasse (1964) a pour la première fois mis en évidence la présence d'anticorps spécifiques dans le LCR de patients atteints de THA. L'immunofluorescence a aussi été utilisée par Mattern et al. (1965) à la phase nerveuse de la THA, les auteurs concluant à son intérêt diagnostique au niveau du LCR. Bailey et al. (1967) ont appliqué la technique à des échantillons de sang séché sur papier filtre. La plupart des patients montraient une immunofluorescence positive (92 %), alors que seulement 6 % des témoins sains étaient faiblement positifs au test.
La méthode a été améliorée par Magnus et al. (1978a) en utilisant l'antigène lyophilisé LiTat 1.3 préparé à l'Institut de médecine tropicale Prince Léopold d'Anvers ainsi que le conjugué d'anticorps anti-IgG humain gamma spécifique marqué à la fluorescéine produit par Pasteur Diagnostics. Ce test est exécuté sur sérum ou plasma en laboratoire. S'il y a fixation, la fluorescence sera positive et le test sera positif. L'utilisation de sang séché sur papier filtre peut être faite (technique des confettis), mais le test IF1 nécessite deux sorties sur le terrain ou le retour du suspect. De plus le protocole étant long, ce test devient peu pratique. Peu coûteux en terme d'équipement et de consommables, il a été adapté au terrain en collectant les échantillons sanguins sur papier filtre (Whatman 4). Le test a été longtemps utilisé au Congo Brazzaville pour le dépistage de nouveaux patients (Frézil et al., 1974 ; Noireau et al., 1987 ; Lemesre et al., 1988). Les auteurs considèrent même qu'au Congo, une IFI positive correspond à une infection par le trypanosome (Ginoux et Frézil, 1981). La technique s'est aussi révélée très utile dans le suivi des patients traités (Frézil et al., 1978). Plus récemment, le test a été évalué par Kegels et al. (1992) chez 28 patients confirmés par examen parasitologique. Ces auteurs lui attribuent une sensibilité de 82 % avec une valeur prédictive positive de 12,7 %. Mais le test montre une positivité grandissant avec l'âge et un nombre élevé de faux

positifs. Par ailleurs, il est peu facile à utiliser dans les conditions du terrain, car il doit être analysé en laboratoire spécialisé, nécessitant de retourner sur le terrain pour retrouver les patients (Checkley et al., 2004). Il soulève aussi des difficultés de stockage et induit des problèmes logistiques et d'organisation. Malgré ces inconvénients, l'IFI reste un très bon moyen d'analyse en laboratoire.

3.1.1.2.3. - Les tests immunoenzymatiques

Plusieurs tests **ELISA (Enzyme Linked lmmunosorbent Assay)** ont été décrits pour la THA. Cette méthode immunoenzymatique de dosage des anticorps a été adaptée de la technique décrite par Engvall et Perlman (1972) au dépistage de la trypanosomose à *T. b. rhodesiense* (Voller et al., 1975) et à *T. b. gambiense* (Ruitenberg et Buys, 1977). Le principe de la technique est le suivant : l'antigène soluble utilisé est adsorbé sur les parois des puits d'une microplaque en polystyrène, dans lesquels les échantillons de sérum dilué à examiner sont ensuite mis à incuber. Les anticorps spécifiques se fixent sur les antigènes correspondants. Après élimination par lavage des molécules n'ayant pas réagi, l'addition d'un conjugué anti-immunoglobuline marqué à la peroxydase entraîne la formation d'un complexe antigène/anticorps conjugué fixé sur les parois des puits. L'excès de conjugué est éliminé et le complexe est révélé par une réaction colorée après addition d'eau oxygénée et de chromogène (orthodianisidine). La densité optique peut être mesurée par un spectrophotomètre. Cette technique est fiable à condition de disposer d'un équipement sophistiqué et de la capacité d'utiliser d'importants volumes d'eau pure. Elle est donc essentiellement destinée au laboratoire.

L'ELISA/*T. b. gambiense* est un protocole mis au point par Büscher et al. (1995 ; 1999). Des microplaques sont recouvertes à 4 °C par 150 µL/puits avec un mélange de glycoprotéines variantes de surface (VSG) de *T. b. gambiense* LiTat 1.3, Litat 1.5 et LiTat 1.6, chacun à une concentration de 2 µg/mL, donnant une concentration protéique totale de 6 µg/mL dans du tampon PBS (phosphate-buffer saline). Le sérum est dilué au 1:500 dans du PBS-Blotto et 150 µL sont placés dans les puits de la microplaque.

Une variante de ce test a été réalisée avec des échantillons de salive dilués au 1:2. Les résultats ont montré que le test permet de détecter des anticorps IgG, bien que leur niveau soit 250 fois plus faible qu'en utilisant du sérum (Lejon et al., 2003a). La poursuite de l'optimisation de l'ELISA/*T. b. gambiense* est encourageante, Lejon et al. (2006), ayant montré que la concentration d'anticorps dans la salive reflète leur concentration dans le sang, bien que les variations individuelles soient importantes.

3.1.1.2.4. - La trypanolyse (immune trypanolysis), à base d'antigènes vivants, est le test sérologique de référence pour confirmer une infection si le trypanosome n'a pas été mis en évidence. Ce test utilise des VAT précis et est réservé aux laboratoires ayant la possibilité de maintenir des populations clonées de trypanosomes. La lyse des trypanosomes est observée en présence du complément. Ce test est bien codifié pour diagnostiquer une infection à *T. b. rhodesiense* (Vervoort et al., 1983 ; Isharaza, 1990) et à *T. b. gambiense* (Van Meirvenne et al., 1995). Il n'y a pas de faux positifs avec ce test, il peut servir de référence pour l'ensemble des autres tests sérologiques (Büscher et Lejon, 2003).

3.1.1.3. - Les tests de détection des antigènes spécifiques des trypanosomes

La technique du Dipstick Colloidal Dye Immuno Assay (DIA, Kashiwazaki et al., 2000) a été proposée pour l'analyse de l'infection du bétail par *Trypanosoma evansi* mais n'est pas actuellement disponible chez l'homme. Le principe est la détection d'antigènes de trypanosomes multiples. La réaction est réalisée sur des bandelettes d'acétate de cellulose sur lesquelles des anticorps de trypanosomes connus ont été absorbés à différents endroits, puis plongés dans le sang à tester. La réaction est mise en évidence par des particules colorées.

Nantulya et Lindquist (1989) ont pratiqué la détection d'antigènes circulants, en utilisant des antigènes spécifiques de *T. brucei*, *T. congolense* et *T. vivax*). Le sang ou le sérum des sujets à tester est mis en présence d'antigènes fixés sur microplaque. Un conjugué couplé à une enzyme permet de révéler la réaction, la lecture se faisant visuellement ou par mesure de la densité optique au spectrophotomètre. Cette

technique est surtout utilisée en médecine vétérinaire. De leur côté, Olaho-Mukani et al. (1994) utilisent des préparations de trypanosomes purifiées, réalisant un piégeage d'antigènes de *T. b. rhodesiense*, et s'en servent pour déterminer l'efficacité du traitement entrepris. Les antigènes ont été détectés chez 83 des 99 patients examinés avant traitement. Les résultats après traitement sont complexes. Néanmoins, tous les patients en rechute après traitement ont eu des profils présentant des taux d'antigènes élevés ; aucune rechute n'a été observée lorsque les niveaux d'antigènes sont restés faibles après traitement. Les auteurs concluent cependant que la technique ELISA utilisée ne peut pas être employée seule et qu'elle nécessite l'adjonction de techniques de confirmation parasitologique.

Le piège à antigène en technique ELISA est basé sur la production d'un anticorps monoclonal spécifique. Le test a été utilisé en dépistage pour être évalué et Komba et al. (1992) ont ainsi dépisté 88 à 97 % des patients confirmés parasitologiquement. Le test ne présentait également aucune réactivité croisée avec d'autres infections virales, bactériennes et parasitaires. Mais, malgré de bons résultats en laboratoire, il reste toujours à l'adapter au diagnostic de terrain (Card Indirect-Agglutination Antigen Test, CIAT).

3.1.1.4. – La biologie moléculaire

Le diagnostic a vite progressé dans la THA et des progrès encore plus rapides surviendront sans doute prochainement (Brun et Balmer, 2006). Ils seront aidés en cela par la description complète des séquences du génome de *T. brucei* et des espèces voisines (Hall et al., 2003 ; Berriman et al., 2005) ainsi que la mise à disposition de la première carte génétique (MacLeod et al., 2005). La connaissance de la séquence génomique facilite l'identification de marqueurs moléculaires et la construction d'amorces, mais aussi devrait permettre l'identification de protéines cibles comme marqueurs sérodiagnostiques (Brun et Balmer, 2006).

La première technique utilisée dans la THA a été l'hybridation. La dénaturation de l'ADN bicaténaire produit deux brins monocaténaires (Singh, 1997). L'hybridation consiste à lier des fragments complémentaires d'ADN à cet ADN dénaturé. Elle a été

rapidement suivie par l'amplification en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction, PCR ; Singh, 1997). Cette technique de biologie moléculaire est une méthode d'amplification génique *in vitro*, qui permet de copier avec un facteur de multiplication de l'ordre du milliard une séquence d'ADN ou d'ARN connue, à partir de quelques picogrammes d'acide nucléique.

L'hybridation utilise de l'ADN branché non radioactif (bDNA). Elle a été développée par Harris et al. (1996) et appliquée au diagnostic de la THA chez 50 patients de Côte d'Ivoire sur des préparations de l'interface leucocyte-plasma (buffy coat) de sang centrifugé. Deux séquences d'ADN répétitives spécifiques du complexe *T. brucei* (l'ADN satellite répétitif 177-bp et l'élément ribosomal mobile, RIME) ont été choisies comme cibles de l'analyse bADN. Les analyses par hybridation ont été comparables aux données de l'examen microscopique du buffy coat. Cette technique est une excellente méthode de laboratoire, difficile à appliquer sur le terrain. Les auteurs indiquent qu'il s'agirait de la première tentative d'utilisation de la biologie moléculaire dans le diagnostic de la THA.

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou amplification en chaîne par polymérase) utilise la dénaturation par la chaleur d'ADN bi-caténaire pour promouvoir la multiplication de fragments spécifiques d'ADN. Pour Jamonneau et al. (2001), un bon candidat moléculaire pour le diagnostic doit être répété un grand nombre de fois pour une sensibilité optimale, être situé sur des régions conservées pour éviter les problèmes induits par la variabilité intraspécifique, être spécifique des trypanosomes pathogènes pour l'homme, et être détectable facilement dans les liquides biologiques de l'homme et chez le vecteur. Actuellement, ces objectifs ne sont toujours pas totalement atteints.

Dès 1996, l'application de la PCR à la maladie du sommeil, en utilisant l'amorce TBR1-2 à partir de séquences d'ADN satellites (Moser et al., 1989), a permis de détecter l'ADN des trypanosomes en Côte d'Ivoire (Kanmogne et al., 1996), au Cameroun (Truc et al., 1999) et en Ouganda (Enyaru et al., 1998 ; Kyambadde et al., 2000). Sa limite de détection est de 25 parasites par mL (Kanmogne et al., 1996). Elle est de 40 trypanosomes par mL (sensibilité 87 %) lorsque les amorces ESAG 6-7

situées sur les gènes associés aux sites d'expression des VSG, donc présents en multicopie et non pas satellites, sont utilisées (Kabiri et al., 1999). La technique mise au point par l'ORSTOM de Montpellier (Del Pino, 1999) utilise l'amorce TBR1-2. Réalisée dans un volume réactionnel de 25 µL, elle permet l'extraction de 100 échantillons par jour. La préparation prend ¾ d'heure et aboutit à de l'ADN purifié qui peut être traité immédiatement par PCR ou conservé à 4 °C ou -20 °C et traité en différé. Cette technique utilise une méthode simplifiée d'extraction d'ADN par une résine chélatrice d'anions. Elle est ainsi rendue plus sensible (99,4 %) et permet la détection d'un trypanosome dans un mL de sang chez le porc (Penchenier et al., 1996) et chez l'homme (Penchenier et al., 1999 ; 2000). L'utilisation d'autres amorces (ORPHON 5J ; de Almeida et al., 1998) a aussi permis d'être plus sensible que les examens parasitologiques conventionnels. La PCR permet aussi une détection plus précoce de l'infection que les tests sérologiques. Par ailleurs, la sensibilité de la PCR est de 100 % quand elle est pratiquée sur des échantillons parasitologiquement positifs (Truc et al., 1999 ; Kyambadde et al., 2000 ; Jamonneau et al., 2003). Chez des sujets sérologiquement positifs mais aparasitémiques avec les différentes méthodes de détection des trypanosomes utilisées, certains auteurs ont rapporté des discordances avec la sérologie (Kyambadde et al., 2000 ; Garcia et al., 2000 ; Solano et al., 2002). La PCR permet de révéler la présence d'ADN de trypanosome chez des sujets qu'on peut considérer comme trypanotolérants (Koffi et al., 2006).

La spécificité de la PCR est de 98,6 % avec les amorces TBR1-2 au Cameroun (Penchenier et al., 2000). Elle est de 97 % avec les amorces ESAG 6-7 en Angola et en Guinée équatoriale (Kabiri et al., 1999). Pour Jamonneau et al. (2001), il semble bien qu'une PCR positive indique bien une infection active, car elle ne resterait positive que quelques jours après la mort des trypanosomes.

Mais la plupart des tests sus cités sont incapables de différencier les sous-espèces de *Trypanosoma brucei*. Ainsi, l'amorce TBR1-2 (Moser et al., 1989), considérée comme la plus sensible, amplifie l'ADN des espèces *T. brucei* s.l. comprenant *T. b. gambiense*, *T. b. rhodesiense*, mais aussi *T. b. brucei* qui n'est pas pathogène pour l'homme. En 2001, Welburn et al. ont montré que le gène de la résistance associée au

sérum humain (serum resistance associated gene, *SRA*) est un marqueur spécifique de *T. b. rhodesiense*, utilisable pour le diagnostic de l'infection rhodésienne (Gibson et al., 2002 ; Radwanska et al., 2002a). En effet, la protéine encodée par le gène avait été identifiée comme responsable de la résistance du sérum humain à cette sous-espèce de trypanosome (de Greef et al., 1989 ; de Greef et al., 1992 ; de Greef and Hamers, 1994). La détection de *T. b. gambiense* porte essentiellement sur l'identification de gènes de la VSG, tels que *LiTat 1.3* et *AnTat 11.17* (Magnus et al., 1978a). Mais en raison de la variation des séquences du répertoire VSG, il est possible que certains foci ne soient pas présents dans certains isolats (Enyaru et al., 1993).

Radwanska et al. (2002c) ont adapté la technique du PNA (peptide nucleic acid) FISH (fluorescence *in situ* hybridization) mise au point par Stender et al. (1999) pour différencier les souches tuberculeuses des souches non tuberculeuses dans des cultures de *Mycobacterium* à la détection de *T. b. rhodesiense*. Les molécules sont des pseudopeptides qui hybrident des cibles d'acides nucléiques complémentaires. Dans les PNA, la contrepartie du squelette de sucre phosphaté de l'ADN et de l'ARN est un polyamide formé par des unités répétitives de *N*-2-aminoacéthyl glycine auxquelles des bases nucléiques sont attachées de manière covalente. Afin d'identifier des cibles pour la confection des sondes PNA, des séquences d'ADN ribosomal parasitaire de 13 à 15 nucléotides (Tbr7, Tbr16, Tbr18) tirées d'une banque de données accessible ont été sélectionnées pour leur complémentarité parfaite avec les séquences cibles identifiées. Le test est de réalisation rapide et facilite la détection microscopique des trypanosomes (seuil de détection : 500 parasites/mL de sang) en évitant de surcroît une possible confusion avec d'autres protozoaires par une sélection des séquences cibles sur banque de donnée génétique. La haute performance d'hybridation permet de gagner du temps dans l'hybridation de l'ADN. Les sondes PNA sont par ailleurs résistantes aux protéases et aux nucléases cellulaires les protégeant d'une dégradation pendant le processus d'hybridation. Pour les auteurs, la technique peut être utilisée par tous les laboratoires d'analyse clinique.

En conclusion, l'utilisation de la PCR dans le diagnostic de la maladie du sommeil est un progrès important. Les techniques sont en permanence améliorées pour trouver des amorces autorisant une plus grande spécificité et pour permettre de traiter un plus grand nombre d'échantillons de façon concomitante, surtout depuis l'adaptation de la technique PNA-FISH, rapide et fiable et capable de distinguer les sous-genres de trypanosomes. Par ailleurs, le coût des installations requises est souvent prohibitif pour les pays de la zone d'endémie.

La RT-PCR et la détection des ARN

La reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) est une PCR après transcription inverse d'un acide ribonucléique (ARN) en ADN complémentaire (ADNc). Elle détecte les ARN, qui sont beaucoup moins stables que l'ADN. Mais la méthode indique l'existence d'une réplication active de séquences d'ADN. L'une des difficultés de cette méthode concerne l'extraction des ARN. Ceux-ci peuvent être très facilement dégradés et l'extrait peut contenir de l'ADN génomique. La RT-PCR est moins sujette que la PCR à des contaminations pendant le recueil d'échantillons et permettrait de différencier une infection active. Cette technique n'est pas appliquée pour l'instant, sauf pour les besoins de la recherche (Büscher et Lejon, 2003).

Une cible est en effet représentée par une glycoprotéine VSG-like de la poche flagellaire dont il a été montré qu'elle est un marqueur spécifique de *T. b. gambiense*, TgsGP (*T. b. gambiense*-specific glycoprotein), (Radwanska et al., 2002b). Picozzi et al. (2003) ont utilisé ces différentes propriétés et les amorces en découlant pour analyser la situation épidémiologique en Ouganda où la ligne de démarcation entre les deux pathologies est mal systématisée. Felu et al. (2007) proposent d'utiliser l'identification après amplification par RT-PCR d'un ARN de *TgsGP*. Les auteurs ont identifié la région génomique contenant le *TgsGP*. Le *TgsGP* est physiquement lié à une troncature pour un gène homologue à *AUTI* (*APG3*), un gène impliqué dans la formation vésiculaire et l'autophagie de *Saccharomyces cerevisiae*. *T. b. gambiense* est hétérozygote pour *AUTI*. Ce réarrangement génomique est conservé au niveau de tous les isolats étudiés. Cette particularité peut permettre l'étude épidémiologique des isolats de *T. b. gambiense*.

La « loop mediated isothermal amplification » (**LAMP**) est une nouvelle méthode d'amplification isotherme en boucle décrite en 2000 par Notomi et al. Cette méthode permet d'amplifier l'ADN avec une spécificité, une efficacité et une rapidité élevées sous des conditions isothermes. L'application d'une seule température (63-65 °C) pour dénaturer l'ADN peut être réalisée avec de simples incubateurs (tels qu'un bain-marie) permettant d'éviter l'utilisation coûteuse de thermocyclers. Par ailleurs, la réaction produit un précipité de pyrophosphate de magnésium visible à l'œil nu, qui indique que l'amplification a eu lieu. La méthode peut donc être mise en place sur le terrain. Elle utilise une ADN polymérase et un groupe de quatre amorces (deux amorces internes et deux amorces externes) spécialement conçues pour reconnaître six séquences distinctes de l'ADN cible. Les amorces internes contiennent chacune deux séquences distinctes correspondant aux séquences « sens » et « antisens » de l'ADN cible. L'une initie le processus au début, l'autre agit comme auto-initiateur du processus d'amplification lors des étapes ultérieures. Un échantillon d'ADN contenant la séquence cible et les quatre amorces est dénaturé par la chaleur et rapidement refroidi sur de la glace. Le déplacement du brin d'ADN qui suit la synthèse d'ADN induite par les amorces externes libère un ADN monocaténaire. Celui-ci sert de gabarit pour la synthèse d'ADN initiée par les amorces internes et externes secondaires, produisant une structure en boucle du brin d'ADN. Dans les cycles LAMP suivants, une amorce interne hybride la boucle et initie le déplacement de la synthèse d'ADN comprenant le brin d'origine et un nouveau brin d'ADN en boucle avec un brin deux fois plus long. La réaction cyclique se poursuit avec l'accumulation de 10^9 copies de la cible en moins d'une heure. Le produit final est représenté par des brins d'ADN en boucle avec plusieurs répétitions inversées de la cible et des structures en forme de chou-fleur comprenant de multiples boucles formées par des anneaux entre les zones de répétition inversées de la cible sur le même brin. En raison du fait que LAMP reconnaisse la cible par six séquences distinctes initialement et par quatre séquences distinctes par la suite, on peut s'attendre à amplifier la séquence cible avec une sélectivité élevée. De fait la LAMP

amplifie l'ADN sans que la présence de molécules d'ADN différentes de l'ADN cible influence la réaction.

Kuboki et al. (2003) ont appliqué la méthode LAMP au diagnostic de trypanosomes du groupe *brucei*. Ils ont montré que la sensibilité de LAMP est cent fois supérieure à celle de la PCR. Comparant les résultats obtenus avec d'autres parasites (*Trypanosoma*, *Babesia*, *Toxoplasma*), ils ont aussi démontré que LAMP possède une spécificité élevée, est capable de détecter les trypanosomes dès le premier jour post-infection chez la souris (au sixième jour pour la PCR) avec une grande reproductibilité d'un jour à l'autre, alors que les résultats de la microscopie étaient erratiques.

Plus récemment, Njiru et al. (2008a) ont identifié une séquence de l'élément mobile d'insertion répétitive (repetitive insertion mobile element, RIME) du sous-genre *Trypanozoon* et ont utilisé des amorces développées pour un test LAMP pour analyser des isolats de *Trypanozoon* et des échantillons de patients atteints de THA. Le test RIME LAMP a été réalisé à 62 °C en utilisant une PCR en temps réel et un bain-marie. L'amplification de l'ADN a été détectable dans les 25 minutes. La sensibilité de l'analyse a été de 0,001 trypanosomes/mL alors que les tests PCR conventionnels donnent des valeurs de 0.1 à 1000 trypanosomes/mL. Le test LAMP a détecté les 75 isolats de *Trypanozoon*, avec une sensibilité de 86,9 % pour les amorces TBR1 et deux amorces spécifiques du sous-genre *Trypanozoon*. La PCR du gène *SRA* a détecté 21 des 40 souches de *T. b. rhodesiense*. Les amorces TgsGP spécifiques de *T. b. gambiense* ont détecté 11 souches sur 13. A partir des 20 échantillons cliniques, le test LAMP a détecté 18 ADN de parasite. Le test *SRA* LAMP est robuste et possède un réel potentiel d'utilisation dans les zones d'endémie (Njiru et al., 2008b).

Le Dipstick PCR oligochromatography (PCR par oligochromatographie en bandelette réactive) a été récemment développé (Claes et al., 2007). Un ADNr 18S est amplifié par PCR et visualisé en 5 minutes sur une bandelette réactive par l'intermédiaire d'une hybridation avec une sonde conjuguée à l'or (oligochromatographie). L'évaluation multicentrique du test a donné une répétabilité

intra et inter-laboratoire élevée (88,7 et 88,1 %, respectivement). Il semble que le test puisse être appliqué sur le terrain pour le diagnostic de la trypanosomose africaine animale et humaine.

3.1.2. – La confirmation parasitologique

Depuis la découverte de *Trypanosoma gambiense* par Dutton (1902), la confirmation directe de la présence de parasites par l'examen microscopique du sang et/ou d'autres liquides biologiques représente encore aujourd'hui le « gold standard » des techniques de diagnostic biologique (Fèvre et al., 2006). La recherche au microscope, toute imparfaite qu'elle soit, doit toujours être faite, aujourd'hui comme hier, pour deux raisons essentielles : les tests sérologiques ont une marge d'erreur et, surtout, la thérapeutique est toujours fondée sur des produits toxiques, notamment au stade 2. La capacité du trypanosome à envahir tous les liquides corporels a conduit à examiner le sang, le suc ganglionnaire, le LCR, mais aussi, de façon plus anecdotique, la moelle osseuse (Guibert, 1938 ; Guibert et Boscq, 1938), ou encore les hydrocèles. Cependant, en dépistage de masse, seuls sont examinés le sang et le suc ganglionnaire pour confirmer la trypanosomose, ainsi que le LCR pour établir le diagnostic de stade. Le nombre de parasites détectés ne joue pas un rôle déterminant dans le diagnostic, car il fluctue au cours de l'infection. Néanmoins, il faut savoir répéter les examens. Ainsi, l'examen quotidien pendant deux semaines peut augmenter le nombre de patients confirmés parasitologiquement (Onyango et al., 1966).

3.1.2.1. - L'aspiration du chancre d'inoculation peut permettre de détecter des trypanosomes précocement, quelques jours avant leur apparition dans le sang. La ponction puis l'aspiration de la goutte séreuse qui exsude du chancre permet un examen à l'état frais au microscope et la confection d'une lame colorée au Giemsa. Cette technique est rarement utilisée mais elle pourrait prendre sa place dans l'examen de touristes piqués par une glossine, notamment dans les zones infestées par *T. b. rhodesiense*.

3.1.2.2. - L'examen du sang

Plusieurs techniques sont appliquées, des techniques d'examen microscopique simples aux examens après concentration des trypanosomes. L'examen du sang est en général plus sensible dans la forme à *T. b. rhodesiense* (Apted, 1970).

3.1.2.2.1 - Les techniques simples sans concentration

L'examen à l'état frais de 5 à 10 µL de sang prélevé à la pulpe du doigt, immédiatement placés entre lame et lamelle, est le moins sensible et le plus souvent décevant. L'examen au microscope est fait avec un grandissement 10x40. Les trypanosomes sont repérés par les mouvements qu'ils « impriment aux hématies permettant de reconnaître l'existence des parasites à un très faible grossissement quand ils sont nombreux » (Laveran et Mesnil, 1904). Le repérage des trypanosomes étant basé sur leur mobilité, il faut éviter toute confusion avec les spirochètes, les microfilaires et les microgamétocytes extraflagellés. Martin et Leboeuf (1908d) trouvent les trypanosomes dans 81 cas sur 217. Le test est toujours utilisé en raison de sa simplicité et du résultat immédiat s'il est positif, comme par exemple en République démocratique du Congo, en complément d'autres techniques (Lutumba et al., 2006), malgré un seuil de détection de 6 000 à 10 000 trypanosomes/mL, soit un trypanosome pour 200 champs microscopiques explorés (van Meirvenne, 1999 ; Büscher et Lejon, 2003) et une sensibilité peu élevée (Miezan et al., 1994). Le test d'érythrolyse utilisant une solution lysante mélangée au sang total pour détruire les hématies a été proposé par Dukes et al. (1984) pour améliorer la détection des trypanosomes mobiles. Pour augmenter la visibilité des trypanosomes, on peut aussi ajouter du dodécyl sulfate de sodium, un détergent qui n'affecte pas la mobilité du parasite et observer la préparation au grossissement 10x25 (van Meirvenne, 1999). L'utilisation d'un microscope équipé d'un contraste de phase permet d'améliorer sensiblement le rendement de l'observation directe du sang (ou d'autres liquides biologiques) à l'état frais.

Le frottis sanguin consiste en l'observation microscopique (10x40 ou en immersion x100) de coloration de sang frais (5 µL) soit au Giemsa dilué après fixation dans de

l'alcool méthylique, soit au May-Grünwald-Giemsa. La lame est observée sans lamelle au grossissement 10x40 ou sous immersion avec un objectif x100. Cette méthode a l'avantage d'être simple, rapide et peu coûteuse. Mais, sa limite de détection étant de 10 000 parasites/mL (van Meirvenne, 1999), elle s'avère peu sensible dans les cas de faible parasitémie.

L'examen de la goutte épaisse

La goutte épaisse est confectionnée avec 25 µL de sang prélevés à la pulpe du doigt ou au lobe de l'oreille et déposée sur une lame d'examen microscopique propre lavée dans une solution chaude concentrée de détergent, rincée abondamment à l'eau et séchée. Les lames sont stockées dans une solution d'alcool à 70° (Henry et al., 1981). La goutte de sang est immédiatement agrandie et défibrinée en tournant avec un coin de lame très propre ou un cure-dent jusqu'à obtenir une préparation homogène de 1 cm de diamètre. Puis la préparation est séchée en position horizontale. Durant le séchage, la préparation est abritée des rayons solaires directs et protégée des mouches. On peut pratiquer une hémolyse avec une technique rapide utilisant une solution de saponine et de formol (Thellier et al., 2002). La lame est ensuite colorée au Giemsa à 5 % (utiliser de l'eau distillée ou de pluie neutralisée par une solution de carbonate de lithium à 2 % en présence de rouge de phénol) pendant 30 minutes. Une variante est proposée par Thellier et al. (2002) sur sang hémolysé : après hémolyse, la lame est rincée délicatement à l'eau sans fixation ; 8 gouttes de Giemsa R (rapide) sont déposées en encadrant le dépôt et la lame est agitée par mouvement de basculement pendant 45 secondes. Après séchage, la lecture de la goutte épaisse est pratiquée sous immersion (x100), l'examen durant environ 20 minutes (van Meirvenne, 1999).

L'examen de la goutte épaisse colorée au microscope à l'immersion (x100) demande de l'expérience pour reconnaître les trypanosomes, qui doivent présenter au moins deux des éléments morphologiques suivants : noyau, membrane ondulante avec ou sans flagelle libre, kinétoplaste. Cet examen est peu applicable sur le terrain car il est trop long à exécuter (10-15 minutes par lame). La lecture n'est pas immédiate et est peu reproductible, dépendant de la capacité de coloration et de la lyse des

trypanosomes. L'évaluation conduite par Henry et al. (1981) a montré que l'examen de la goutte épaisse est plus performant que l'examen du sang à l'état frais. En complément d'autres méthodes, ce test est largement utilisé en République démocratique du Congo (Lutumba et al., 2006), malgré un seuil de détection de 2 000 (Bisser, 2001) à 5 000 parasites/mL (van Meirvenne, 1999 ; Büscher et Lejon, 2003), différent des 17 trypanosomes/mL d'un comité d'experts (WHO, 1998), et une sensibilité faible de 34,5 % (Miezan et al., 1994). Au lieu de colorer au Giemsa les gouttes épaisses, Carrié et al. (1980) ont proposé de rechercher les parasites en utilisant une technique d'immunofluorescence avec formation d'un conjugué fluorescent observé en lumière bleue. Ce procédé réduirait le temps d'examen et accroîtrait la sensibilité du test.

3.1.2.2.2 - Les techniques de concentration des trypanosomes

Les techniques de centrifugation permettent de concentrer les parasites à l'interface entre la couche des leucocytes et le plasma (buffy coat) afin de palier leur faible nombre dans le sang circulant. Elles permettent aussi l'examen de cette interface au microscope directement ou après coloration.

La triple centrifugation a été mise au point par Martin et Leboeuf (1908d) et Martin et al. (1909b). Elle est réalisée avec 5 à 10 mL de sang prélevés sur anticoagulant (citrate pour Martin et al., 1909b) centrifugés à faible vitesse (<1000 tours/min). La couche inférieure rouge représente les hématies. L'interface blanche contient les leucocytes et les trypanosomes. Le surnageant est transféré dans un autre tube et centrifugé à 2000-2500 tours/min. Il se forme encore un culot rouge. Le surnageant du deuxième tube est pipeté et le reste est mélangé délicatement et centrifugé à 3000 tours/min. Une partie du culot est transférée sur une lame de verre et examiné en microscopie optique. Cette technique requiert une centrifugeuse à vitesse variable, des tubes coniques de grande taille et une grande quantité de sang. Elle a permis à Martin et Leboeuf (1908d) de détecter des trypanosomes chez 69 patients sur 75. Cependant, elle est longue à réaliser et, étant peu pratique sur le terrain, n'est plus utilisée.

La centrifugation en tube capillaire (CTC) ou test de Woo-Bennett résulte de l'adaptation par Woo (1970 ; 1971) d'une technique utilisée initialement pour la détection de trypanosomes aviaires (Bennett, 1962). Un tube capillaire hépariné (75 mm de long, 1 mm de diamètre) est rempli de sang (70 µL de sang) et l'extrémité sèche est bouchée à la plasticine ; puis le tube est centrifugé. Les tubes sont ensuite placés en position verticale avant l'examen. Au moment de l'examen, le tube est fixé sur une lame porte objet. L'observation directe du "buffy coat" du tube capillaire est réalisée avec un objectif x50 en immersion à l'interface "buffy coat"-plasma. Le tube peut aussi être sectionné, le buffy coat étant alors placé entre lame et lamelle et observé au microscope sans préparation (10x10 ou 10x20). L'examen permet de détecter la présence éventuelle de trypanosomes dont on pourra définir le sous genre en fonction de leur forme et de leur motilité. Le buffy coat peut aussi être étalé sur une lame et examiné après coloration.

Une méthode de centrifugation semblable avait été utilisée dès 1902 par Dutton et Todd (1903), lors de la mission en Sénégambie commanditée par la London School of Tropical Medicine un an après la découverte du trypanosome humain (de Raadt, 2005). Les sept personnes infectées par le trypanosome lors de leur enquête sur l'infection palustre portant sur un millier d'individus souffraient de fièvre et de symptômes mineurs. La « *Trypanosoma* fever », comme ils la nommèrent, fut alors considérée comme une infection tropicale mineure et le lien avec la maladie du sommeil n'avait pas encore été établi.

La CTC requiert une centrifugeuse à microhématocrite à grande vitesse et, au microscope, un objectif à longue focale (25 x à 32 x). La lyse des hématies par une toxine bactérienne, l'aérolysine provenant d'*Aeromonas hydrophila* permet d'éliminer les hématies de la préparation, rendant la mise en évidence des trypanosomes plus facile (Pearson et al., 1986).

Peu coûteuse, la CTC est plus efficace que l'examen à l'état frais ou la goutte épaisse. Le seuil de détection varie selon les auteurs (500 parasites/mL pour Büscher et Lejon, 2003 ; 16 parasites/mL pour un comité d'experts, WHO, 1998 ; 5 000 trypanosomes/mL pour van Meirvenne, 1999) et la sensibilité est de 48,3 % (Miezan

et al., 1994). Cependant, en présence de microfilaires, la mise en évidence des trypanosomes est difficile (Lutumba et al., 2006).

La chromatographie par la minicolonne échangeuse d'anions

La séparation sur colonne cellulose DEAE (diethylaminoethyl) cellulose a été proposée par Lanham et Godfrey en 1970, fonctionnant sur le principe de différences d'adsorption-élution des éléments présents dans le sang. Dans un échantillon de 5 à 10 mL de sang hépariné dilué au tiers passé sur la colonne, la technique permet de séparer les trypanosomes des cellules sanguines. Les cellules sanguines, chargées plus négativement que les trypanosomes, sont retenues par la cellulose. L'éluat de la colonne est ensuite filtré sur membrane ou centrifugé pour la recherche du parasite au microscope. Cette technique est très utile au laboratoire pour préparer de grandes quantités de trypanosomes purs, chaque sous-espèce de trypanosome ayant des caractéristiques d'adsorption-élution spécifiques (Carrié et al., 1980). Elle est cependant difficilement applicable au diagnostic de terrain.

Puis, la technique a été miniaturisée et adaptée pour le diagnostic de terrain (mini-Anion Exchange Centrifugation Test, mAECT ; Lumsden et al., 1979 ; 1981). Le test est effectué sur 300 à 350 µL de sang recueillis sur héparine, puis placés dans un tube de centrifugation à pointe fine. Le tube est centrifugé et la pointe examinée au microscope (10x10) avec un objectif à longue focale. Il s'agit d'une des techniques les plus sensibles. Différents chiffres ont été avancés concernant le seuil de détection : de 100 trypanosomes par mL de sang (Lumsden et al., 1981 ; Lumsden et al., 1984) à 3-4 parasites par mL (WHO, 1998) ou 6 parasites par mL (Wéry, 2000). La technique est facilement utilisable sur le terrain. Sa sensibilité de 84,5 % (Miézan et al., 1994) est supérieure à toutes les autres techniques de confirmation, mais son coût est élevé (Lutumba et al., 2006). Une trousse pour mAECT est actuellement disponible auprès de l'Institut national de recherche biomédicale de Kinshasa en République Démocratique du Congo (Büscher et al., 2009).

Le Quantitative Buffy Coat (QBC) développé pour le diagnostic du paludisme, utilise aussi un tube à hématocrite. Dans le diagnostic de la THA, c'est une variante du CTC. Le coffret d'analyse comprend un tube capillaire aux parois couvertes

d'anticoagulant (oxalate de potassium, héparinate et EDTA bipotassique), un petit flotteur en plastique aux dimensions précises pour être glissé à l'intérieur du tube capillaire, un bouchon et une pince en plastique pour les manipulations. Le colorant utilisé est l'acridine orange. Le tube capillaire est rempli par du sang prélevé à la pulpe du doigt et est incliné et roulé plusieurs fois entre les doigts pour homogénéiser le mélange de sang, d'anticoagulant et d'acridine orange. Le tube est obturé par le bouchon du côté qui contenait l'acridine orange et le flotteur est introduit à l'autre extrémité à l'aide de la pince. Puis le tube est centrifugé immédiatement entre 10 et 12 000 tours/min dans une centrifugeuse à microhématocrite. Le flotteur, qui possède la même gravité relative que les leucocytes, se place sur le paquet cellulaire ne laissant que quelques cellules pénétrer entre le piston et la paroi du tube capillaire. Le plasma est clair avec des reflets verdâtres ; les plaquettes ont une fluorescence jaune orangé ; la couche des lympho-monocytes est vert pomme ; les noyaux des granulocytes ressortent en jaune avec des granulations cytoplasmiques rouges ; la couche monocellulaire des érythrocytes est rouge clair ; enfin, vient le culot globulaire rouge foncé. L'observation se fait au niveau du flotteur avec un objectif à immersion (x50 ou x60) en lumière ultraviolette. Les trypanosomes mobiles et dont l'ADN est coloré en orange sont aisément détectés. Bailey and Smith (1992 ; 1994) reconnaissent la facilité de mise en œuvre de la technique lors de leur étude sur la détection de *T. b. rhodesiense* dans la région de Busoga en Ouganda, bien qu'elle ne soit pas plus sensible que la goutte épaisse ou la CTC (Woo, 1970). Puis, ces auteurs étendent leurs travaux à la détection de *T. b. gambiense* sur une cohorte de 134 patients, sans aucun échec. Le seuil de détection est de 16 trypanosomes par mL (WHO, 1998). Le QBC est rapide à réaliser (moins de 5 minutes pour Rogalle et al., 1996). L'étude comparative de Truc et al. (1994) le place en bonne position par rapport à la mAECT et lui trouvent l'avantage indéniable d'exprimer clairement un résultat en moins de 10 minutes sur le terrain. Cependant, c'est un test coûteux nécessitant une centrifugeuse à microhématocrite et surtout un microscope en lumière ultraviolette générée par une source froide connectée par une fibre optique à un objectif spécial comprenant un filtre approprié. Frézil (1995) reconnaît son intérêt

diagnostic mais trouve difficilement concevable de préconiser son utilisation massive dans les régions où le coût de la santé est extrêmement lourd pour des états pauvres. La technique peut cependant être préconisée pour des équipes ne disposant pas de microscopiste performant.

D'autres techniques de concentration ont été proposées :

Carrié et al. (1980) laissent sédimenter un volume de sang recueilli sur anticoagulant, puis centrifugent le plasma surnageant et examinent le culot de centrifugation au microscope soit directement soit après étalement et coloration. Le plasma peut être conservé pour la réaction d'immunofluorescence indirecte.

La concentration des trypanosomes par choc hypotonique a été proposée par Leeflang et al. (1974). Il s'agit de traiter par l'eau distillée un prélèvement de sang sur anticoagulant, puis d'ajouter rapidement une solution hypertonique pour restaurer l'isotonicité. Après centrifugation, les trypanosomes vivants sont recherchés dans le culot. Cette méthode serait aussi sensible que la centrifugation en tubes capillaires. Mais elle est d'une mise en œuvre plus délicate.

D'après Carrié et al. (1980), Jadin et Lambert ont présenté une technique de séparation sur mélange Ficoll-lsopaque dans un document ronéotypé de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers en 1975. Cette technique permet une centrifugation différentielle par gradient isolant trois couches (sérum, Ficoll, culot d'hématies). Les trypanosomes se trouvent avec les leucocytes à l'interface sérum/Ficoll et peuvent être prélevés et examinés au microscope.

3.1.2.3. - Les techniques de culture et d'inoculation

Les méthodes de culture des trypanosomes ont longtemps été imparfaites. Mais, en 1970, Apted notait déjà que les souches de *T. b. gambiense* et de *T. b. rhodesiense* se cultivaient aisément. Depuis lors, les techniques ont été affinées.

L'hémoculture a été proposée par Brutsaert et Henrard (1938) et évaluée par Neujean et Evens (1952). Ces auteurs concluent de leurs investigations chez 212 patients, en utilisant une hémoculture sur milieu à base de gélose, que l'hémoculture est moins performante que les autres techniques avant traitement. Elle donnerait de

meilleurs résultats que la goutte épaisse et la ponction ganglionnaire dans le suivi du traitement.

Le Kit for *in vitro* isolation (KIVI, Aerts et al., 1992) est un milieu de culture qui permet d'isoler les trypanosomes et de les cultiver en injectant directement du sang ou du LCR dans le milieu. On prélève du sang sur un anticoagulant, puis on ensemence un flacon KIVI par individu. Après avoir conservé ceux-ci à 27 °C dans une étuve à l'obscurité, on repique le mélange de sang dans un milieu de culture. A la suite de plusieurs repiquages successifs, on obtient une concentration suffisante de parasites, dont on peut faire une identification taxonomique (Truc et al . 1997). L'examen isole très bien les parasites, mais étant retardé après plusieurs jours, il n'est pas applicable sur le terrain.

L'inoculation par du sang suspect à des animaux de laboratoire (actuellement, rat Wistar et souris) a été utilisée dans le passé, notamment pour *T. b. rhodesiense* (WHO, 1998). On fait produire des trypomastigotes par un animal (*Mastomys natalensis*, cobaye, rat) que l'on sacrifie au seuil de 0,5 à 1.10^9 trypanosomes/mL de sang. *Grammomys surdaster* (anciennement *Thamnomys surdaster*) a récemment montré son intérêt dans l'isolement de *T. b. gambiense* à partir du sang ou de LCR de patients à Kinshasa (Büscher et al., 2005). Les parasites sont recueillis par élution sur colonne DEAE cellulose (Del Pino, 1999). Cette technique est longue. Elle n'est pas utilisée par les équipes travaillant sur *T. b. gambiense*.

3.1.2.4. - L'examen des adénopathies

3.1.2.4.1. - Intérêt de l'examen des ganglions lymphatiques dans le diagnostic de THA

En 1904, le 28 mai (British Medical Journal, 1904a) et le 4 juin (The Lancet, 1904b), Greig et Gray publient une courte note sur l'intérêt de cet examen pour le diagnostic de la maladie. A la suggestion de Mott, ils examinent les ganglions lymphatiques de 15 patients atteints de maladie du sommeil. Ils trouvent de nombreux trypanosomes extrêmement mobiles dans toutes les préparations de ganglions cervicaux observées

entre lame et lamelle. Les trypanosomes sont présents au niveau des ganglions fémoraux mais en plus petit nombre. Ils sont beaucoup plus nombreux dans les ganglions que dans le sang et le LCR. Les auteurs sont persuadés que l'examen du suc ganglionnaire peut représenter une méthode plus sûre et plus rapide de diagnostic des cas précoces que l'examen du sang. Au début, les ganglions sont excisés. Puis ils utilisent une seringue hypodermique et retirent le suc qui est ensuite déposé sur une lame. Les lames sont ensuite colorées et permettent de voir des trypanosomes altérés, indiquant une détérioration au sein des ganglions lymphatiques. Greig et Gray examinent aussi les ganglions cervicaux de 5 Africains atteints d'une fièvre à trypanosomes et suivis depuis une année. Ils y trouvent aussi de nombreux trypanosomes mobiles. Aucun streptocoque n'est mis en évidence sur les lames analysées. Les auteurs pensent donc que l'infection par le streptocoque doit survenir très tard dans l'évolution. Les auteurs concluent donc que les deux maladies en forment une seule et que le trypanosome en est la cause. Martin et Leboeuf (1908d) trouvent des parasites dans les ganglions lymphatiques de 197 patients sur 216. Ils indiquent que les ganglions les plus souvent positifs dans la recherche des trypanosomes sont les ganglions sous-maxillaires, puis les ganglions cervicaux, puis enfin les ganglions inguinaux.

3.1.2.4.2. - L'examen du suc ganglionnaire

Martin et Leboeuf (1908c), reprenant l'avis de Dutton et Todd (1906) sur l'utilité de la ponction ganglionnaire, estiment qu'elle rend de réels services dans le diagnostic de la maladie du sommeil. Les trypanosomes sont retrouvés dans le suc ganglionnaire dans 91 % des cas. Néanmoins, contrairement à la Sénégambie et bien qu'au Congo les individus soient souvent porteurs d'adénopathies cervicales, seulement une faible partie d'entre elles contiennent des parasites. Comme le souligne Bagshawe (1909), qui s'inspire des travaux de la commission française au Congo, la recherche des trypanosomes semble moins constamment positive que la recherche faite dans le sang, surtout après centrifugation.

Sur le plan de la méthode, le suc ganglionnaire est prélevé avec une aiguille hypodermique dont l'ouverture est bouchée par le doigt lorsque l'aiguille est retirée (Van Meirvenne, 1999). Le suc est rejeté sur une lame avec une seringue et examiné à l'état frais recouvert d'une lamelle. Comme pour l'examen du sang à l'état frais, les trypanosomes bousculent les éléments blancs. Ils ne doivent pas être confondus avec les spirochètes, les microfilaires et les microgamétocytes exflagellés. Cependant, seulement 30 à 40 % des patients infectés par *T. b. gambiense* présentent des adénopathies. Par ailleurs, certains ganglions sont petits et indurés les rendant difficiles à prélever. La sensibilité de la technique chez les patients présentant des adénopathies ponctionnables est de 55,8 % (Lutumba et al., 2006) ou de 58,6 % (Miézan et al., 1994), variant entre 40 et 80 % pour Büscher et Lejon (2003). L'examen prend environ 10 à 15 minutes, ce qui le rend difficile à réaliser pendant le dépistage.

Guibert (1938) a insisté sur la nécessité de colorer le suc ganglionnaire après avoir fait l'étalement sur lame de verre. Sur le terrain, cependant, la disponibilité en réactif (alcool méthylique et Giemsa ou May-Grünwald-Giemsa) peut représenter une limite qui s'ajoute à la difficulté de la lecture de la lame colorée au microscope. Celle-ci requiert un microscope de bonne qualité et un microscopiste expérimenté (Cattand, 1999). L'examen révèle des trypanosomes à flagelle court et des parasites dégradés invisibles à l'examen direct à l'état frais (Guibert, 1938).

En zone infectée par *T. b. rhodesiense*, l'examen est rarement effectué (Apted, 1970). En effet, même si des ganglions sont présents, ce qui n'est pas la règle dans cette forme, les examens sanguins sont plus parlants.

3.1.2.5. - L'examen de la moelle osseuse a été préconisé par Guibert (1938) et Guibert et Boscq (1938), alors au Laboratoire d'entomologie de Yaoundé au Cameroun, examinant les patients au poste de contrôle de la maladie du sommeil. L'examen nécessite une ponction sternale au niveau de la 3e côte. Ces auteurs anesthésient la peau et le périoste. Puis enfoncent de 1,25 à 1,5 cm sous le périoste un trocart avec mandrin stériles (1,5 mm de diamètre, 5,5 cm de long). Puis, une aiguille

stérile est insérée à la place du mandrin et une aspiration est réalisée. Le produit est déposé sur une lame de verre et coloré après étalement. Pour Apted (1970), la technique n'est pas applicable en condition de terrain.

3.1.2.6. - L'examen du liquide d'hydrocèle a été réalisé lorsque le patient présentait ces particularités. C'est le cas d'un vieillard atteint d'éléphantiasis du scrotum rencontré sur l'Ibenga, affluent de l'Oubangui, au cours d'une campagne de dépistage pour la THA (Clapier, 1921). Il présente aussi des adénopathies cervicales et un amaigrissement, l'examen du liquide de ponction de l'hydrocèle révèle la présence de trypanosomes à l'examen frais entre lame et lamelle. Cette observation est répétée chez un homme de 60 ans trypanosomé (suc ganglionnaire et sang : présence de trypanosomes).

3.1.2.7. - Les autres techniques : le xénodiagnostic

Le xénodiagnostic (Frézil, 1971) implique que des glossines saines écloses au laboratoire piquent le malade afin d'étudier l'infection de la mouche par une observation microscopique des différents organes quelques jours après le repas sanguin (Frézil, 1971). La dissection de l'estomac est réalisée entre le troisième et le cinquième jour après le repas sanguin sur le suspect. On observe alors des formes procycliques trypomastigotes en cours de multiplication. Le sang du patient, conservé au froid, peut être aussi expédié au laboratoire où il servira à nourrir des glossines sur membrane. A partir du tube digestif des glossines (stade procyclique), il est possible d'initier des cultures *in vitro* et d'inoculer des animaux à partir de leurs glandes salivaires (stade métacyclique). Le problème dans ce cas est l'élevage difficile des mouches et la faible infectiosité des glossines. Par ailleurs, le test est de réalisation longue. Il ne peut être réalisé qu'en laboratoire spécialisé comportant un matériel et des personnels spécialisés en entomologie.

3.2. - Le diagnostic de stade

3.2.1. – Généralités

Depuis la découverte de trypanosomes dans le LCR de patients en 1903 par Castellani, l'examen du LCR est la clé du diagnostic de stade pour la décision thérapeutique, ainsi que celle du suivi après traitement. Celui-ci peut certes être utilisé pour le diagnostic de maladie, mais pas à titre systématique, posant alors un problème éthique. En 1922, Lefrou et Ouzilleau font le point de l'étude du LCR. En temps normal, le LCR ne compte que 2 à 3 lymphocytes par µL. Chez les malades, le LCR peut contenir 1 000 leucocytes, surtout des lymphocytes, puis de grands et moyens mononucléaires, avec des plasmocytes (« plasmazellen » à rapprocher des cellules de Mott) et des cellules vacuolaires sans noyau (cellules mûriformes de Christy). Cette réaction leucocytaire révèle l'existence d'une méningovascularite qui se développe avec l'évolution de la maladie, la qualité des éléments cellulaires ayant plus de valeur que leur quantité (Joyeux et Sicé, 1937). Conjointement, l'hyperalbuminose se développe. Un LCR normal contient 0,10 à 0,15 g d'albumine par litre, en tout cas moins de 0,25 g/L (Collomb, 1958). Dans la maladie du sommeil, ces taux sont rapidement dépassés.

Le LCR est prélevé en général par ponction lombaire ; le geste est exécuté au village lors du dépistage. Le patient est assis sur un plan dur (table, chaise, bord du lit). On lui demande d'accentuer au maximum la cyphose dorsale en contractant la paroi abdominale, les bras croisés, pour permettre une ouverture maximale de l'espace intervertébral. Un aide peut également aider à la flexion de la tête sur le tronc. La ponction lombaire est réalisée la plupart du temps par un infirmier ou un technicien de santé parfaitement entraîné. L'aiguille à ponction lombaire est introduite dans l'espace intervertébral lombaire L4 ou L5 en prenant comme repère les crêtes iliaques avec les index de chaque main, l'espace intervertébral étant repéré avec les pouces. La peau des lombes et du dos est largement nettoyée et désinfectée à l'alcool iodé. Dans les années 1930, la ponction sous-occipitale a été préconisée. Elle éviterait les incidents qui suivent la ponction lombaire (Joyeux et Sicé, 1937). Ces incidents sont

représentés par des céphalées violentes durant plusieurs heures et plus rarement par des vomissements, des tremblements, des sueurs et même exceptionnellement une syncope (Miletto, 1951).

Dès que le mandrin de l'aiguille à ponction lombaire est retiré, le LCR sourd et coule goutte à goutte. Afin d'éviter une contamination par des cellules sanguines, les 5 premières gouttes sont rejetées. Le recueil de LCR est en général de 5 à 10 mL. Récemment, il a été préconisé d'en prélever de plus grandes quantités pour favoriser la détection des trypanosomes (Mpandzou, 2007). Cependant, le recueil de trois tubes de 5 mL successivement à partir d'une seule ponction lombaire n'a montré aucune différence entre les tubes dans la détection des trypanosomes ni dans le comptage cellulaire.

L'examen du LCR est aujourd'hui encore la méthode de choix pour prouver la présence du trypanosome dans le système nerveux central. Les trypanosomes, qui peuvent occasionnellement être observés au début de la maladie, ne sont présents dans le LCR, en règle générale, que lorsque la cytorachie et la protéinorachie s'élèvent (Apted, 1970). Cependant, comme le soulignent Joyeux et Sicé (1937), il ne faut pratiquement pas compter sur la présence des trypanosomes au début de la maladie. Cette conception a cependant beaucoup évolué et dès 1958, Collomb, dans son cours de l'Ecole du Pharo à Marseille, insistait sur le fait qu'un ou plusieurs examens négatifs ne signifient rien. « Quand l'affection est soupçonnée, il faut mettre en œuvre toutes les méthodes et ceci pendant un certain temps avant de conclure ».

3.2.2. - Les techniques d'analyse du LCR

Les techniques d'analyse du LCR regroupent la recherche de trypanosomes, le comptage cellulaire et le dosage des protéines totales et des immunoglobulines.

3.2.2.1. - La détection des trypanosomes

L'examen direct est peu sensible et il est donc nécessaire de recourir à des techniques de concentration des trypanosomes.

L'examen après simple centrifugation (Laveran et Mesnil, 1912) a été décrit dès 1902 par Castellani (1903b ; 1903d). Ce dernier propose une méthode de concentration des trypanosomes par centrifugation. La méthode utilisée est de retirer 10 mL de LCR clair et de les centrifuger 15 minutes. Castellani examine le sédiment blanchâtre au microscope à relativement faible grossissement. Comme les trypanosomes sont très actifs, ils sont facilement détectés. Martin et Leboeuf (1908d) trouvent des trypanosomes chez 74 malades sur 105 après une centrifugation d'un quart d'heure. Miézan et al. (2000) ont proposé de modifier cette technique (modified single-centrifugation) en transférant 2 mL de LCR dans une pipette Pasteur scellée à la flamme et centrifugée 10 minutes à 600 g. L'observation est faite au microscope dans la chambre d'examen de la mAECT. Comparées aux résultats de la double centrifugation, les données ont montré que la centrifugation simple modifiée détecte plus souvent des trypanosomes. Cependant, la comparaison avec les données du comptage cellulaire et celles de la concentration en protéines du LCR n'a montré aucune différence entre les techniques.

Cet examen peut aisément être suivi d'une double centrifugation deux fois plus sensible (Cattand et al., 1988). La centrifugation microhématocrite peut être utilisée sur le culot du LCR déjà centrifugé (de Raadt, 1984). Elle a permis de trouver des trypanosomes dans le LCR sans l'élévation attendue du nombre de leucocytes et des taux de protéines (WHO, 1983).

La double centrifugation du LCR, selon l'Organisation mondiale de la santé (WHO, 1986), est actuellement la technique la plus sensible pour mettre en évidence les trypanosomes : 1) après avoir fait un comptage des leucocytes, centrifuger le LCR pendant 10 minutes à 900 g (approximativement 2000 tours/min. Décanter le surnageant et le conserver pour d'autres tests. 2) Suspendre de nouveau le sédiment dans le LCR restant dans le tube en tapotant le tube avec un doigt. 3) aspirer la suspension dans un tube à microhématocrite sans le remplir complètement en laissant un cm sans liquide. Travailler avec une poire aspirante utilisée pour la détermination de l'hématocrite. 4) Sceller l'extrémité sans liquide du tube en le passant à la flamme d'un bec Bunsen. 5) centrifuger pendant 5 minutes dans une centrifugeuse à

hématocrite. 6) Placer les tubes sur une lame d'examen au microscope et placer une lamelle sur l'extrémité scellée du tube. 7) Mettre de l'eau propre entre lame et lamelle en évitant les bulles. Cela permet d'éviter la distorsion de l'image lors de l'observation au microscope. 8) Examiner l'extrémité scellée de chaque tube au grossissement 200 X. Les trypanosomes seront observés à proximité du sédiment de leucocytes au fond du tube.

L'inoculation du LCR à une culture de tissus (fibroblastes en monocouche) est coûteuse, complexe, doit être réalisée en environnement recherche et est réservée au laboratoire. Il en est de même de l'inoculation à l'animal.

Les techniques moléculaires

La PCR peut également être appliquée pour le diagnostic de stade de la maladie c'est-à-dire sur le LCR. Truc et al. (1999 ; 20 malades de Côte d'Ivoire) ont utilisé les amorces TBR1-2 et une résine chélatrice pour l'extraction de l'ADN et ont montré que les résultats obtenus étaient comparables aux techniques conventionnelles de détermination du stade (double centrifugation pour mise en évidence des parasites, protéinorachie, cytorachie). Ils ont aussi déterminé que la PCR pourrait permettre un diagnostic de rechute précoce. Il semble également que les corrélations soient meilleures lorsque la cytorachie dépasse 20 cellules/µL, des valeurs comprises entre 5 et 20 lymphocytes/µL correspondant à des PCR soit positives soit négatives (Jamonneau et al., 2001). Une telle constatation justifie sans doute les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé et de la Foundation for Innovative New Diagnostics (voir paragraphe suivant sur le comptage cellulaire).

3.2.2.2. - Le comptage cellulaire

Dès 1903, Low et Castellani (Anonymous, 1903e) montrent que le LCR de patients atteints de THA contient des cellules mononucléées, observation très vite reprise par Manson (1903b). Le rapport de la Sleeping sickness commission publié en 1905 (Anonymous, 1905) indique que les cellules du LCR de malades atteints de maladie du sommeil sont des lymphocytes, qui deviennent de plus en plus nombreux avec l'évolution de la maladie. Broden et Rhodain (1908a ; 1908b ; 1908c) introduisent le

comptage cellulaire dans le diagnostic de stade de la THA. Ils centrifugent 5 mL de LCR à 1900-2000 tours/min pendant 10 min. L'examen du culot est réalisé sur cellule de comptage Thoma-Zeiss. Ils établissent ainsi que la cytorachie normale est inférieure à 5/µL. Dans la THA, les chiffres varient avec l'avancement de la maladie et il est possible de compter 1000 à 1200, voire 2000 cellules/µL (Leder et Weller, 2007b). Les cellules sont des petits lymphocytes, puis des lymphocytes à vacuole, rarement des myélocytes éosinophiles. Dans une intervention publiée dans Le Névraxe de janvier 1909 (Anonymous, 1909), Broden et Rhodhain rapportent l'examen chimique et cytologique du LCR réalisé chez 145 malades. Ils définissent ainsi 3 stades de la maladie. Au début de la maladie, le LCR est sans changement par rapport à la normale, contenant peu de petits lymphocytes et des traces d'albumine et de glucose. Lorsque la maladie est établie, la réaction méningée est révélée par une lymphocytose marquée, avec occasionnellement des cellules morulaires vacuolées et des changements dans la constitution chimique du LCR. L'augmentation de la sérumalbumine, qui peut atteindre 100 mg/L, et de la globuline. Au stade terminal, des myélocytes acidophiles sont observés occasionnellement, avec de volumineux éléments cellulaires d'origine incertaine et des cellules endothéliales. Martin et Darré (1910) décrivent aussi ces grosses cellules mononucléaires dont certaines sont en dégénérescence. La cellule de Mott (Mott, 1905) est en forme de mûre (mûriforme), bourrée de vacuoles à contenu très peu basophile. C'est en fait un plasmocyte qui n'a pas réussi à libérer ses anticorps (Lejon et Büscher, 2005).

L'examen au microscope est réalisé sur cellule de Fuchs-Rosenthal (Broden et Rhodain, 1908a ; aire : 4x4 mm ; volume total : 3,2 µL ; le comptage est fait dans 5 carreaux, le total donnant le nombre de cellules/µL) ou plus communément sur cellule de Nageotte (Joyeux et Sicé, 1937 ; aire : 10x10 mm ; volume total : 25-50-100 µL ; le comptage est fait dans 8 bandes et le résultat est divisé par 10 pour être exprimé par µL). On peut aussi utiliser la cellule de Malassez (aire : 2x2,5 mm ; volume total : 1 µL ; le comptage est fait sur toute la cellule et donne le résultat exprimé par µL), la cellule de Neubauer (aire 3x3 mm ; volume total : 0,9 µL ; le comptage se fait sur toute la cellule, le résultat étant multiplié par 10/9 pour être

exprimé par µL) ou la cellule type KOVA® à usage unique (volume total : 1 µL ; le comptage est fait sur toute la cellule si le nombre de cellules est inférieur à 3 dans un petit carré ; sinon, le résultat est multiplié par 10 pour être exprime par µL). L'utilisation d'hématimètres différents peut induire des changements dans le résultat du comptage cellulaire (Lefrou et Ouzilleau, 1922). Après recueil du LCR, la lecture doit être faite rapidement car les cellules peuvent se lyser, en leur laissant cependant 5 minutes pour se déposer au fond de l'hématimètre. Un volume d'au moins un microlitre doit être examiné pour éviter les erreurs liées aux limites de détection des chambres de comptage, sans cependant faire déborder le LCR. La lecture est faite à l'objectif x 10, l'objectif x 40 étant utilisé pour vérifier l'absence de globules rouges et l'uniformité ou l'hétérogénéité du type cellulaire observé. Les leucocytes contenus dans le LCR normal sont toujours inférieurs à 5/µL. Mais ce seuil correspond aussi à la limite de détection de la plupart des hématimètres, ce qui peut induire de grandes variations en cas de leucocytorachie faible. Le comptage des éléments blancs ne peut pas être réalisé si le prélèvement contient des hématies. Cependant, il est possible de faire une deuxième lecture après lyse des hématies. Pour Lefrou et Ouzilleau (1922), il existe une réaction méningée pathologique au-dessus de 20 cellules/µL (et de 150 mg/L pour l'albuminorachie). La coloration permet le comptage différentiel à la recherche des cellules de Mott (plasmocytes) et des trypanosomes (Gallais, 1942).

Le comptage cellulaire a donné lieu à des seuils qui varient d'une époque à l'autre et d'un Programme national de lutte à l'autre. Lors de deux réunions récentes organisées par TDR/OMS et par FIND en 2006, le choix s'est porté sur les valeurs suivantes : LCR normal pour une valeur de cytorachie inférieure à 5/µL ; stade méningo-encéphalitique lorsque la cytorachie dépasse 20/µL.; entre ces deux valeurs, on parle de stade intermédiaire (Bisser et al., 1997). A ce stade, Lejon et al. (2003b) démontrent l'existence d'un risque de non efficacité thérapeutique par la pentamidine chez des patients dont le compte cellulaire est compris entre 11 et 20/µL. Il est bien évident que ces seuils sont arbitraires, donc critiquables (Bisser, 2001). Le seuil de 5 cellules/µL est proche de la limite de détection des hématimètres. Par ailleurs, le seuil de normalité varie en fonction de l'âge et peut être élevé chez l'enfant (Bisser,

2001) : jusqu'à 30 cellules/µL en deçà d'un an, 20 cellules/µL entre 1 et 4 ans, 10 cellules/µL de 5 ans à la puberté (Kjellsberg et Knight, 1993). Les seuils permettant cette classification sont toujours sujets à débat (Barrett et al., 2003).

Récemment des réunions d'experts ont été organisées par l'Organisation mondiale de la santé (Tropical Disease Research, TDR) et la Foundation for Innovative New Diagnostics ou FIND (Brainstorming Meeting on Diagnostic Tools for Case Management and Staging of Human African Trypanosomiasis. London School of Hygiene & Tropical Medicine, Keppel Street, London, 3 February 2006 ; Joint Meeting for the launching of the new FIND/WHO "Initiative for development of diagnostic tests to support the control of Human African Trypanosomiasis", WHO, Geneva, Switzerland, 6 February 2006 ; Meeting on HAT Staging Markers, FIND, Geneva, November 30, 2006), de façon à coordonner et homogénéiser les recherches et travaux conduits sur le terrain. Ces réunions d'experts ont conduit à recommander de considérer trois groupes de malades (WHO, 2007) : ceux dont la cytorachie est inférieure ou égale à 5 cellules/µL (stade 1) ; ceux dont la cytorachie est supérieure ou égale à 20 cellules/µL (stade 2) ; et ceux dont la cytorachie est comprise entre ces deux valeurs (stade intermédiaire).

L'identification des types cellulaires du LCR est rarement effectuée, malgré les recommandations de Joyeux et Sicé (1937) pour qui la qualité des éléments cellulaires ayant plus de valeur que leur quantité. En effet, la lymphocytose du LCR est de règle au deuxième stade de la maladie du sommeil (Lefrou et Ouzilleau, 1922). Elle évolue vers une forme plasmocytaire. Greenwood et al. (1976) ont montré que chez des patients au stade avancé d'une infection à *T. b. gambiense*, 5 % des cellules sont des plasmocytes, 90 % des lymphocytes ou des lymphoblastes ; il n'est pas observé de polynucléaires mais occasionnellement des éosinophiles et quelques cellules de Mott. Parmi les lymphocytes, 11 % sont des lymphocytes T, une majorité des cellules B présentant des immunoglobulines de surfaces (61 %) de type IgM (32 %), IgG (26 %) ou IgA (4 %). Le marquage des lymphocytes B sur le terrain a été réalisé récemment en utilisant la technique des anticorps anti-CD19 (Buguet et al., 2007 ; Bouteille et al., 2010). En effet, contrairement aux lymphocytes T, les

lymphocytes B possèdent un antigène CD19 de surface. Lorsqu'au LCR du patient on mélange des billes de polyéthylène sur lesquelles sont fixés des anticorps anti-CD19, les billes sont attirées par les antigènes CD19 de surface des lymphocytes B et forment avec ces cellules des rosettes volumineuses, les billes colorées formant une couronne autour de la cellule. Les lymphocytes T ne sont pas marqués. La lecture au microscope est facile et le comptage des lymphocytes B est exécuté rapidement en quelques minutes. La présence d'au moins deux lymphocytes B dans un microlitre de liquide céphalorachidien signe l'existence d'un processus infectieux et/ou inflammatoire au niveau du système nerveux central et permet de poser le diagnostic de stade 2. Cette technique permet donc de limiter les incertitudes dans la détermination du stade évolutif de la THA.

3.2.2.3. - Le dosage des protéines totales est réalisé par des techniques colorimétriques (bleu de Coomassie, méthode BCA au cuivre) et des techniques de floculation (par l'acide sulphosalicylique, l'acide trichloracétique, la méthode de Sicard et Cantaloube). La méthode de Sicard et Cantaloube (1916), utilisant le rachialbuminomètre, a longtemps été la plus utilisée. Cette technique facilement utilisable dans les centres de santé périphériques malgré des contraintes strictes, est remplacée par les techniques colorimétriques qui ont une meilleure reproductibilité mais nécessitent l'utilisation d'un standard et sont réservées au travail de laboratoire.

3.2.2.3.1. - Les méthodes de floculation

La méthode de Sicard et Cantaloube consiste, sous l'effet de la chaleur et de l'acide trichloracétique, à coaguler les protéines (albumine) présentes dans le liquide. Cette coagulation va prendre l'apparence de flocons blanchâtres (d'où le terme de floculation) qui précipitent au fond du récipient. On mesure la hauteur du sédiment, qui est proportionnel à la quantité de protéines, avec un albuminomètre de Sicard et Cantaloube, tube fin, gradué et évasé à son extrémité supérieure. Les graduations de la partie inférieure du tube sont irrégulièrement espacées. Chaque division correspond à une concentration déterminée (1ère = 0,22 g par litre; 2ème = 0,40; 3ème = 0,56; 4ème =

0,71; 5ème = 0,85). Hors-mis l'albuminomètre, la technique requiert une solution à 30% d'acide trichloracétique, un bain-marie (une simple casserole suffit) et un compte-gouttes. On verse 4mL de LCR dans l'albuminomètre (jusqu'au trait 4) et on chauffe le tube au bain-marie sans atteindre l'ébullition (80-90 °C). Cette température atteinte, on ajoute, 12 gouttes de la solution à 30% d'acide trichloracétique. On place le tube au repos pendant 5 minutes avant de le boucher et de le retourner 2 ou 3 fois. On le replace à l'endroit et on le laisse dans une position strictement verticale. La lecture peut se faire au bout de 5 heures ou même être différée jusqu'à 24 heures. Il existe une version simplifiée de ce test avec lecture visuelle avec comparaison à une gamme standard ou avec une lecture au spectrophotomètre à 450 nm. Elle ne nécessite qu'un volume de 300 µL de LCR préalablement centrifugé dans un tube, ajouté et homogénéisé avec 900 µL d'acide trichloracétique dilué à 5 %. La lecture est réalisée 5 minutes plus tard en comparant la turbidité à celle de la solution standard. Le stock d'acide trichloracétique doit être renouvelé tous les mois. Le seuil de normalité avec cette méthode est de 250 à 370 mg/L (WHO, 1983).

La précipitation avec l'acide sulfosalicylique est une autre possibilité. Un volume de 1 mL de LCR est ajouté à 3 mL d'acide sulfosalicylique à 30 g/L. La lecture, effectuée après 5 minutes, est visuelle ou réalisée au spectrophotomètre à 450 nm. Le seuil de normalité est de 450 mg/L (WHO, 1983).

3.2.2.3.2. - Les méthodes de colorimétrie

La méthode au bleu de Coomassie brillant est exploitée par deux techniques utilisant le couplage des protéines au bleu de Coomassie G250 dilué au 1:5 dans de l'eau distillée. La coloration obtenue est comparée à celle de tubes contenant des solutions connues de protéines (dye-binding protein assay). Ces techniques utilisent beaucoup moins de LCR que les techniques de floculation.

La technique avec cuvettes utilise 50 µL de LCR additionnés de 2,5 mL de réactif et homogénéisés doucement. La lecture est faite au bout de 2 minutes en ne dépassant pas une heure. La lecture est visuelle ou spectrophotométrique à 595 nm. La

concentration est déduite de la courbe standard. Le seuil de normalité est de 370 mg/L (WHO, 1983).

La technique en plaques de lecture ELISA utilise 10 µL de LCR pour chaque puits additionnés de 200 µL de réactif dilué et homogénéisés. La lecture est faite dans l'heure qui suit en utilisant un lecteur ELISA. Le seuil de normalité est de 370 mg/L (WHO, 2003).

La méthode BCA (bicinchoninic acid) est réalisée à partir d'un kit et de plaques ELISA. Le réactif est préparé extemporanément, dilué au 1:50. Il est ajouté (200 µL) à 10 µL de LCR déposés dans les puits. Le mélange est homogénéisé et incubé 30 minutes à 37 °C. La lecture est visuelle ou utilise un lecteur à 540 nm. Le seuil de détection est de 5 mg/L. La réaction est linéaire entre 20 et 2000 mg/L.

A l'état normal, la concentration de protéines du LCR est d'environ 150 mg/L (Lefrou et Ouzilleau, 1922) et les protéines sont alors constituées de 70 % d'albumine et de 30 % d'IgG originaires du plasma. Ce taux est modérément augmenté dans la THA où il dépasse rarement 1 000 mg/L. L'analyse des protéines totales n'est actuellement plus faite lors des campagnes de dépistage sur le terrain, ni même au niveau des centres de traitement. La raison en est non seulement la nécessité de disposer et de pouvoir entretenir un équipement fragile et onéreux (spectrophotomètre), ainsi que l'instabilité, la disponibilité et le coût des réactifs, mais aussi à cause de la croyance d'une corrélation entre le nombre de cellules et la concentration des protéines du LCR (Büscher et Lejon, 2003).

3.2.2.3.3. - Le dosage des IgM

Mattern (1968) avait rapporté des taux élevés de gamma-macroglobuline dans le LCR (10 % des protéines totales) de patients atteints de THA au stade neurologique dans 100 % des cas, alors que la macroglobuline est absente du LCR d'individus sains. Ces données ont été retrouvées par Whittle et al. (1977) chez 87 % de leurs patients en stade 2, alors que les patients au stade lymphaticosanguin ont des taux d'IgM normaux. L'élévation des IgM dans le LCR résulte de la réponse inflammatoire qui

fait suite à la pénétration des trypanosomes dans le système nerveux central. Les taux élevés d'IgM atteignent jusqu'à 16 fois les taux normaux (Bisser et al., 2002).

Le dosage des IgM peut être réalisé au laboratoire par immunodiffusion radiale de Mancini (Mancini et al., 1965). Appliquant la technique ELISA, Lejon et al. (1998a) ont utilisé les protéines de la VSG de *T. b. gambiense* comme antigène pour la détection de différents isotypes d'immunoglobulines dans le sérum et le LCR de 28 patients atteints de maladie du sommeil, en comparaison de la concentration totale d'immunoglobulines. Une remarquable augmentation des IgG (surtout IgG1) et des IgM a été observée, alors que les IgA restaient à un niveau normal. Les IgG et les IgM sont porteuses de l'action trypanolytique. La mesure concomitante des taux d'immunoglobulines dans le sérum et le LCR permet par ailleurs de calculer le niveau de synthèse intrathécale des anticorps. Les auteurs proposent donc d'utiliser cette technique dans la détermination du stade de la THA. En effet, depuis quelques années, les calculs et équations mis au point par l'équipe de Hansotto Reiber à Göttingen (Reiber, 1994) ont permis d'appréhender le fonctionnement de la barrière hémo-encéphalique en condition physiologique ou pathologique. Les états inflammatoires subaigus et chroniques sont ainsi accompagnés par la synthèse intrathécale d'IgM et d'anticorps spécifiques (Reiber et Peter, 2001). Ces équations ont été récemment introduites dans l'évaluation de l'état de la barrière hémo-encéphalique de patients atteints de THA (Lejon et al., 2003c). Cependant, comme le concluent les auteurs, bien que les données sur la réponse immunitaire intrathécale soient indicatives d'une infection neurologique en cours, il n'y a pas actuellement de certitude sur le changement éventuel des recommandations de l'Organisation mondiale de la santé en matière de stratégie de traitement des patients.

Le Latex/IgM (Lejon et al., 1998b ; 2002) est utilisé pour détecter les niveaux élevés d'IgM dans le système nerveux central de patients en seconde phase de la THA à *T. b. gambiense*. Les résultats ont été comparés à ceux qui ont été obtenus par néphélométrie, qui permet de détecter des concentrations inférieures à 5 mg/L de LCR, et par immunodiffusion radiale obtenue avec des kits du commerce, qui permet la détection de concentrations d'IgM à 0,35-3,5 mg/L (Lejon et al., 1998b). Le réactif

lyophilisé reste stable à 45 °C pendant un an. Après reconstitution, 20 µL de réactif sont placés sur une carte plastifiée où il est mélangé à 40 µL de l'échantillon de LCR et agité sur un rotateur horizontal à 70 tours/min pendant 10 min. La titration d'un échantillon est définie comme le facteur de dilution le plus grand permettant encore la réaction d'agglutination. Le LATEX/IgM permet de détecter les IgM au-dessous de la limite de détection de la néphélométrie. La spécificité du test est de 89 % et sa sensibilité de 93 %. Le test est aussi applicable à l'infection par *T. b. rhodesiense* (Lejon et al., 2002).

4. – Les méthodes d'exploration fonctionnelle neurologique

4.1. – Les aspects morphologiques de l'électroencéphalogramme

4.1.1. - L'électroencéphalogramme (EEG) d'éveil

Les aspects morphologiques de l'électroencéphalogramme au cours de l'éveil ont été décrits très tôt par l'Ecole de Dakar (Gallais, 1951 ; Gallais et al., 1953), puis repris par Radermecker (1955). L'électroencéphalogramme est aujourd'hui surtout utilisé comme examen complémentaire chez les touristes européens infectés accidentellement, permettant de donner une idée de l'avancement de l'encéphalopathie (ondes lentes delta ; Checkley et al., 2007).

Dans la trypanosomose d'inoculation, réalisée par l'équipe de Gallais et de Collomb chez des patients psychotiques, Gallais et al. (1953) observent une quinzaine de jours après l'infection (soit 7-8 jours après l'invasion) l'apparition d'anomalies lentes EEG. Ces anomalies sont également présentes chez les patients victimes d'infection naturelle. Il s'agit d'ondes thêta (4-8 Hz) continues avec des renforcements paroxystiques en bouffées fusiformes sur lesquelles se greffent de nombreuses ondes de la bande de fréquence delta (2 Hz) frontales bilatérales et synchrones. Ces altérations réagissent à l'ouverture des yeux mais ne sont pas modifiées par l'épreuve d'hyperpnée et la stimulation lumineuse intermittente.

Bert et al. (1965) détaillent et confirment les travaux antérieurs. Leur patient au stade lymphaticosanguin a un tracé normal, comme il est de règle. Cette normalité est retrouvée chez trois patients au stade neurologique. Les 14 autres patients au stade 2 présentent un tableau associant deux éléments fondamentaux. Le rythme de fond, caractérisé par le rythme alpha (9-13 Hz) persiste en courtes bouffées bilatérales, synchrones et symétriques de faible amplitude. Parfois, le rythme alpha est cependant un peu ralenti (8-9 Hz). Le deuxième élément, pathologique, est constitué par des ondes lentes de la bande de fréquence delta (0,5 à 4 Hz) bilatérales synchrones et symétriques. Ces ondes sont soit isolées, soit plus fréquemment groupées en bouffées d'amplitude modérée avec un maximum sur les dérivations frontales, apparaissant de

manière intermittente à intervalles de 5 à 15 secondes. Chez les patients les plus avancés sur le plan évolutif de la maladie, le rythme alpha disparaît et le tracé s'aplatit, les bouffées delta apparaissant alors sur un mode quasi périodique. Cet aspect de l'EEG se rencontre dans de nombreuses encéphalites ou leuco-encéphalites subaiguës. Les éléments fondamentaux sont complétés par deux éléments accessoires, des ondes de la bande thêta (5-7 Hz) parfois organisées en bouffées survenant surtout dans les stades nerveux précoces, ainsi que des rythmes rapides sur les dérivations frontales et rolandiques.

L'étude de Hamon et al. (1993) a porté sur 38 patients de Côte d'Ivoire au stade 2 et 10 patients au stade 1. Au stade 1, le tracé EEG présente une activité de fond bêta à 14-25 Hz avec un entraînement du rythme alpha à la fermeture des paupières. Diverses altérations décrites chez les patients au stade neurologique reprennent les anomalies décrites antérieurement. Cependant, au vu des figures 2 (survenue de fuseaux de sommeil à 12-16 Hz avec au moins un complexe K) et 4 (ondes lentes bien synchronisées pouvant indiquer un profond sommeil ; complexe K associé à un fuseau de sommeil), un œil critique pourrait invoquer un endormissement survenu au cours de l'examen, comme c'est fréquemment le cas chez de tels patients.

Parmi leurs huit patients méningo-encéphalitiques, Tapie et al. (1996) observent le ralentissement de l'EEG au cours de l'éveil chez les deux patients les plus atteints. Ils sont d'avis que la diminution des phases d'activation transitoire au cours des stades 1 et 2, ainsi que la survenue d'événements paroxystiques hypnopompiques hypersynchrones au décours surtout du sommeil lent profond, pourraient représenter un signe EEG de gravité de la condition du malade. Ces derniers événements ont également été rapportés par Montmayeur et al. (1994) chez un patient européen infecté au Rwanda. Ces événements indiquent une altération de la transition entre le sommeil lent profond et l'éveil, suggérant une baisse de l'efficacité des réseaux de l'éveil.

4.1.2. - L'électroencéphalogramme de sommeil

Bert et al. (1965) décrivent des tracés EEG de sommeil anormaux chez 16 de leurs 17

patients méningo-encéphalitiques, le dernier ayant un tracé EEG normal. Les phases intercalaires de sommeil orthodoxe léger sont difficiles à distinguer en raison de l'enrichissement du tracé EEG en éléments de fréquence lente, alors que les éléments transitoires du tracé EEG normal disparaissent. C'est le cas des pointes vertex, des fuseaux de sommeil de rythme sigma (12-16 Hz durant une seconde environ) et des complexes K, leur disparition contribuant à la difficulté de distinguer les premiers stades su sommeil orthodoxe (voir paragraphe suivant sur le sommeil). Au cours du sommeil profond, surviennent des épisodes de 3 à 7 secondes d'activité désynchronisée à type de rythme thêta à 5 à 6 Hz ou de rythme alpha à 9 Hz, réalisant l'aspect caractéristique des phases d'activation transitoire décrites plus tard par Schieber et al. (1971). Ces désynchronisations s'accompagnent de modifications végétatives avec variation de la fréquence respiratoire et cardiaque. Bert et al. (1965) estiment que les anomalies de l'EEG de sommeil sont en étroite relation avec la gravité des manifestations cliniques.

S'inspirant des travaux de Bert et al. (1965), Schwartz (1971) note chez son patient, dont l'organisation interne du sommeil est publiée par ailleurs (Schwartz et Escande, 1970), des bouffées lentes pathologiques à type bouffées delta monomorphes prédominant sur les dérivations frontales. Elles peuvent constituer le seul élément permettant de classer les stades de sommeil orthodoxe en sommeil « delta 1 à delta 4 », selon la densité de ces ondes delta ou plutôt selon que les intervalles entre les bouffées sont plus ou moins longs. Cette classification est reprise par Buguet et al. (1989) chez leur premier patient enregistré sans discontinuité pendant 24 heures, ainsi que chez le patient P1 de Buguet et al. (1993).

Chez leurs patients méningo-encéphalitiques, Tapie et al. (1991 ; 1996) notent que le tracé de sommeil a un aspect monotone. Le stade 2 est pauvre en complexes K et en fuseaux de sommeil (12-16 Hz). Il y a peu de phases d'activation transitoire du sommeil, que ce soit au cours du stade 2, des stades 3 et 4 ou du sommeil paradoxal. Cependant, le réveil après le stade 4 est souvent caractérisé par l'apparition d'ondes lentes sinusoïdales de grande amplitude, alors que le reste des paramètres polygraphiques (électromyogramme, respiration, fréquence cardiaque) est

indiscutablement en faveur de la présence d'un état de veille. Le sommeil paradoxal est parfaitement identifiable, de même que l'éveil. Chez les patients moins gravement touchés, le tracé électroencéphalographique reste dans les limites de la normale. Tous les stades sont individualisés, même si, chez certains malades très évolués, la classification doit être adaptée au ralentissement de l'EEG. Lorsque le malade dort, il est parfaitement endormi avec des phases de sommeil orthodoxe ou de sommeil paradoxal. Lorsqu'il est éveillé, l'éveil est pur, hormis quelques signes non spécifiques d'atteinte méningo-encéphalitique.

En somme, la conservation des états de vigilance (éveil, stades 1, 2, 3 et 4 de sommeil lent, sommeil paradoxal) signe l'intégrité des réseaux ponto-bulbaires effecteurs du sommeil. De la même manière, bien qu'ils puissent être ralentis, les réseaux de l'éveil restent réactifs et capables de répondre aux sollicitations sensorielles, comme l'indique la persistance de la réactivité alpha pendant l'éveil. Ce n'est qu'à un stade avancé d'évolution que le ralentissement des processus d'éveil devient évident, avec une invasion par des ondes lentes de la bande delta (0,5-4 Hz), une disparition des fuseaux de sommeil et la survenue d'événements paroxystiques hypnopompiques hypersynchrones. Ces derniers, qui traduisent une altération des transitions sommeil-veille en fin de phase de sommeil lent profond, associent l'activité delta EEG à des signes polygraphiques d'éveil. De telles anomalies sont observées dans les états comateux, ce qui n'est pas le cas de nos patients. Par ailleurs, l'atteinte élective des structures cholinergiques du nucleus basalis de Meynert, impliquées dans les processus d'activation corticale, pourrait être responsable du retard à la suppression des ondes delta au réveil et du ralentissement de l'activité corticale chez les malades les plus graves. Au contraire, le système réticulaire semble intact, comme le suggère la persistance des fuseaux de sommeil à un stade avancé de la maladie. La désorganisation des rythmes circadiens est proportionnelle à l'état évolutif de la maladie. Notamment, le cycle veille-sommeil devient indépendant du déroulement temporel du nycthémère. Les réseaux de l'horloge biologique (noyau suprachiasmatique, glande pinéale) semblent voir leur fonctionnement altéré très

rapidement et très sélectivement, ainsi que le montrent Bentivoglio et al. (1994a) et Buguet (1999).

Les espoirs placés dans l'analyse morphologique de l'EEG ont donc été en grande partie déçus.

4.1.3. – Les potentiels évoqués dans la THA

La technique des potentiels évoqués est utilisée depuis de nombreuses années en neurologie pour dépister une atteinte parfois infra clinique au niveau des voies étudiées. Les voies visuelles sont explorées par les potentiels évoqués visuels depuis le nerf optique jusqu'au cortex occipital. Les voies auditives sont analysées par les potentiels évoqués auditifs depuis le ganglion spinal au niveau du tronc cérébral jusqu'au colliculus inférieur au niveau pédonculaire. La voie lemniscale est étudiée par les potentiels évoqués somesthésiques, les voies corticospinales motrices par les potentiels évoqués moteurs. Ces diverses voies ont été étudiées par Tabaraud et al. (1991 ; 1992) chez 16 patients de Daloa (Côte d'Ivoire) atteints de THA au stade précoce du stade neurologique de l'affection, afin de préciser l'existence ou non d'une atteinte des voies explorées, en particulier au niveau du tronc cérébral, dont on connaît l'importance dans la régulation des mécanismes effecteurs de la veille et du sommeil. Les potentiels évoqués visuels et auditifs étaient normaux, contrairement à la dégradation observée chez 8 patients des potentiels évoqués somesthésiques et/ou moteurs, caractérisée par un allongement de la latence. Cependant, ces anomalies sont aspécifiques et, si la relation avec la THA reste possible, l'influence d'une pathologie associée (métabolique par exemple) ne peut pas être exclue. Hamon et Camara (1993), également à Daloa, retrouvent de tels résultats et les complètent par l'analyse de la variation contingente négative dont l'amplitude est diminuée chez leurs 16 patients, alors que le temps de réaction est augmenté. Ils concluent à une analogie avec les effets de la privation de sommeil chez les sujets sains.

En conclusion, l'intégrité des voies explorées au niveau du tronc cérébral indique que les troubles du sommeil et de la vigilance constatés chez ces patients ne seraient pas liés à une atteinte anatomique des réseaux effecteurs du tronc cérébral.

4.2. – L'étude du cycle veille-sommeil : la polysomnographie

4.2.1. – Utilisation de la polysomnographie dans la THA

L'enregistrement polysomnographique (Rechtschaffen et Kales, 1968) est le seul moyen de différencier avec certitude les états de vigilance qui, pour le neurophysiologiste, sont représentés par l'éveil, le sommeil orthodoxe (stades 1, 2, 3 et 4, les stades 3 et 4 formant le sommeil lent profond) et le sommeil paradoxal (rapid eye movement sleep, REM sleep des auteurs Anglo-Saxons). Cette technique comporte au minimum le recueil de l'électroencéphalogramme, de l'électromyogramme des muscles du menton et de l'électro-oculogramme. Y sont souvent ajoutés l'enregistrement de l'électrocardiogramme, de la respiration bucco nasale et thoracique (pour détecter d'éventuelles apnées au cours du sommeil), de l'électromyogramme des membres inférieurs et de la température interne. Chez l'adulte jeune en bonne santé vivant en milieu tempéré, le sommeil est essentiellement nocturne, avec parfois une sieste dans l'après-midi. Lors de l'épisode majeur nocturne, le sommeil survient après une latence d'endormissement très courte, n'excédant généralement pas 5 minutes. Pendant ce temps, les yeux sont fermés et le rythme alpha est entraîné, remplaçant les bandes de fréquence bêta lente et bêta rapide (entre 13 et 32 Hz). Très vite, après un endormissement en stade 1 (activité EEG faite de fréquences mixtes, avec des éléments phasiques à types de pointes prédominant au niveau du vertex, ou pointes vertex, ou encore ondes V) pendant quelques courtes minutes, bientôt suivies d'une courte phase de stade 2 (léger ralentissement EEG, fuseaux de sommeil du rythme sigma, grandes ondes biphasiques durant une demi à une seconde ou complexes K). Le tracé EEG se charge progressivement en ondes lentes de la bande de fréquence delta et le stade 3 du sommeil orthodoxe s'installe, très vite suivi du stade 4 (plus de 50 % d'ondes delta). Après un court retour en stade 2, le sommeil paradoxal survient après une latence de 60 à 90 minutes. Il est donc consécutif aux différents stades de sommeil orthodoxe. La fréquence EEG la plus communément décrite au cours du sommeil paradoxal est le rythme thêta, mais on rencontre aussi des fréquences rapides de la bande gamma

(supérieures à 32 Hz), les fréquences les plus rapides étant difficiles à étudier dans les pays développés en raison des interférences avec le courant du secteur. Quatre à cinq phases de sommeil paradoxal se succèdent au cours de la nuit, environ toutes les 90 minutes, déterminant ainsi quatre à cinq cycles de sommeil. La plus grande partie du sommeil lent profond survient au cours des deux premiers cycles de sommeil. Cette distribution du sommeil et de l'éveil peut être altérée en climat tropical très chaud (proportion élevée de sommeil lent profond qui envahit les cycles de sommeil successifs ; proportion élevée de sommeil paradoxal ; Buguet et al., 1988 ; Gati et al., 1990 ; Buguet et al., 1991 ; Montmayeur et al., 1992). Cependant, la structure des épisodes de sommeil est relativement fixe, les endormissements en sommeil paradoxal étant notamment rares chez le sujet sain, alors qu'ils représentent une des caractéristiques essentielles de la narcolepsie cataplexie et qu'ils sont observés dans diverses pathologies neurodégénératives (Billiard et Dauvilliers, 2005).

La polysomnographie est une technique performante, mais difficile à mettre en œuvre dans des pays en voie de développement, comme c'est le cas dans les services hospitaliers d'Afrique intertropicale, et plus encore en brousse. Cependant, l'utilisation de la polysomnographie pendant 24 heures consécutives nous a permis de préciser le trouble de la distribution de la veille et du sommeil au cours de la THA.

De fait, les travaux sur le sommeil dans la THA ont été rares avant 1989. En 1965, Bert et al., à Dakar au Sénégal, rapportaient des enregistrements du sommeil nocturne chez 17 patients en phase méningo-encéphalitique. Le seul patient examiné au stade lymphaticosanguin ne présentait aucune altération du sommeil et de l'électroencéphalogramme. Il en a été de même avec un patient à symptomatologie fruste, bien qu'il ait présenté une somnolence diurne évidente. Les auteurs ont analysé surtout le sommeil nocturne et quelques siestes, ce qui leur permit de voir que le sommeil survient également dans la journée, avec les mêmes caractéristiques que pendant la nuit. Les stades de sommeil IA à II et III, correspondant en fait aux stades 1, 2 et 3 du sommeil orthodoxe (non REM sleep des Anglo-Saxons, comme défini par la réunion d'experts tenue en 1968 et publiée par Rechtschaffen et Kales), sont difficiles à cerner, surtout chez les patients au tracé d'éveil anormal. Le tracé

électroencéphalographique est ralenti, chargé en ondes thêta et delta lui donnant parfois l'aspect d'un stade 4. On voit aussi des bouffées d'ondes delta périodiques similaires à celles du tracé de veille. Par ailleurs, les pointes vertex, les fuseaux de sommeil de rythme sigma et les complexes K se raréfient jusqu'à ne plus être détectables. En revanche, contrastant avec ces altérations, le sommeil paradoxal présente un tracé parfaitement normal. Des épisodes de désynchronisation avec des rythmes plus rapides (delta remplacé par thêta, voire par des rythmes plus rapides en faveur d'« activation patterns ») durant 2 à 3 secondes surviennent pendant le stade 4. Les auteurs décrivent ensuite divers types d'organisation du sommeil nocturne de leurs malades et les classent selon plusieurs types. Cependant, ils se fixent surtout sur des critères morphologiques plutôt que de déroulement temporel. Il est évident cependant, par les aspects morphologiques décrits, que leurs patients au stade neurologique sont en fait à un stade très avancé. L'analyse des hypnogrammes présentés par les auteurs montre la présence d'endormissements avec latence courte de sommeil paradoxal, qui n'avaient pas encore été décrits à cette époque (Figure 6 de leur article). Ces épisodes, qui n'ont pas d'acronyme français, sont appelés par les auteurs Anglo-Saxons « Sleep Onset REM Sleep periods » (SOREMP, Rechtschaffen et Kales, 1963).

D'autres enregistrements de nuit et lors de la sieste ont également été réalisés à Paris par Schwartz et Escande (1970) chez un patient de 66 ans d'origine libanaise vivant à Dakar, ainsi qu'en Côte d'Ivoire par Giordano et al. (1984), leur intervention n'ayant pas été publiée mais seulement présentée au XIth International Congress of Tropical Medicine and Malaria à Calgary (Canada). Comme pour le travail de Bert et al. (1965), celui de Schwartz et Escande (1970) et de Schwartz (1971) était centré sur les altérations du tracé électroencéphalographique. Les neuf enregistrements polysomnographiques ont été réalisés sur une période d'observation de 4 mois, le patient étant presque continuellement somnolent. Cependant, lors des cinq enregistrements réalisés dans l'après-midi et lors du seul enregistrement nocturne, les auteurs notent à quatre reprises la présence d'épisodes de sommeil débutant par du sommeil paradoxal ou survenant après une latence d'apparition du sommeil paradoxal

courte. Aucune SOREMP n'était observée lors des trois examens matinaux. Devant ces endormissements en sommeil paradoxal, les auteurs invoquent des narcolepsies et remarquent aussi que l'un des deux hypnogrammes montrés par Bert et al. (1965) met aussi en évidence une SOREMP. La lecture des tracés étant difficile, les auteurs ont dû classer les états de sommeil orthodoxe de la même façon que Bert et al. (1965) en essayant de rester au plus près de la classification de Rechtschaffen et Kales (1968). En effet, de nombreuses altérations lentes frontales de la bande delta envahissent le tracé des stades 1 à 4, les éléments caractéristiques tels que fuseaux de sommeil et complexes K étant inexistants ou très rares, comme chez les patients de Bert et al. (1965). Le tracé d'éveil et de sommeil paradoxal est cependant normal. Malgré l'absence réelle d'enregistrement de 24 heures, les auteurs remarquent également que la distribution de la veille et du sommeil est homogène sur le nycthémère.

Cependant, il fallut attendre 1988 pour que, au Laboratoire de physiologie de la Faculté des sciences de la santé de Niamey (Niger), soit pratiqué le premier enregistrement de 24 heures chez un malade atteint de THA (Buguet et al., 1989). Le malade était un travailleur migrant Nigérien qui avait été contaminé dans la région de Gagnoa, en Côte d'Ivoire, siège d'un foyer de trypanosomose connu. Il présentait une distribution de la veille et du sommeil tout à fait anormale, avec 8 épisodes de sommeil répartis de façon presque homogène sur tout le nycthémère, l'épisode majeur de sommeil survenant cependant la nuit. Le patient a présenté au total 10 épisodes de sommeil paradoxal qui sont survenus cinq fois sur un mode narcoleptique, avec deux SOREMP à latence très courte et trois autres à latence comprise entre 12 et 16,3 minutes. Ce malade est décédé quelques jours seulement après l'enregistrement. Bien que les anomalies morphologiques du tracé EEG aient été nombreuses, comme pour Bert et al. (1965) et Schwartz et Escande (1970), il fallut adapter la classification conventionnelle pour analyser le sommeil orthodoxe.

Ces résultats sont en accord avec ceux des enregistrements polysomnographiques réalisés chez l'animal. Toth et al. (1994), chez le lapin, montrent aussi une augmentation progressive du sommeil lent profond. Chez le rat Wistar, les auteurs de l'Ecole de Bologne (Grassi-Zucconi et al., 1995 ; Grassi-Zucconi et al., 1996) ont

pratiqué des enregistrements polysomnographiques discontinus, montrant notamment une diminution de la latence du sommeil paradoxal et une dérégulation circadienne de la veille et du sommeil réversible sous administration de mélatonine et de son agoniste S-20098 (Grassi-Zucconi et al., 1996). Par des études sur l'expression du proto-oncogène *c-fos*, Bentivoglio et al. (1994) ont bien confirmé que la dérégulation des rythmes circadiens implique celle des noyaux suprachiasmatiques.

Dans un souci de se rapprocher au maximum de la maladie humaine, Darsaud et al. (2004) ont repris le modèle expérimental de Montmayeur et Buguet (1994). Ils ont analysé la polysomnographie de rats Sprague-Dawley infectés par *T. b. brucei* AnTat 1.1E. Deux semaines après l'inoculation des parasites, se développe une dérégulation circadienne de l'alternance veille sommeil. Comme pour l'homme, ce symptôme est complété par l'altération de la structure interne du sommeil avec une augmentation concomitante du nombre de transitions entre les différents états (éveil, sommeil lent léger, sommeil lent profond, sommeil paradoxal) et la survenue d'endormissements directs en sommeil paradoxal (SOREMP). Sur le plan morphologique de l'EEG, ces symptômes sont concomitants d'une invasion progressive d'ondes lentes pathologiques. A la fin de l'évolution, le sommeil lent profond est considérablement augmenté. Les perturbations du sommeil débutent au moment où les trypanosomes apparaissent dans le système nerveux central. Ils représentet donc un marqueur du passage des parasites à travers la barrière hémoméningée.

Bien que le rat ait comme les autres rongeurs un cycle veille-sommeil polyphasique avec des séquences d'épisodes de veille, de sommeil lent et de sommeil paradoxal se répétant au cours du nycthémère, ces altérations en font donc un bon modèle d'étude de la pathologie humaine. Ce modèle a par ailleurs été conforté par des études cliniques (Darsaud et al., 2003) et par la mise en évidence de la dérégulation du rythme circadien de la température interne du rat infecté et de la survenue d'épisodes d'hypothermie majeure souvent concomitants du décès de l'animal (Berge et al., 2004 ; Chevrier et al., 2005).

4.2.2. – Le syndrome polysomnographique de la THA : mise en évidence

La description du syndrome polysomnographique de la THA a nécessité six autres investigations utilisant soit les techniques conventionnelles de laboratoire (électroencéphalographes à papier), soit les techniques ambulatoires avec des systèmes d'enregistrement de type Holter.

En Côte d'Ivoire en 1989, à Daloa, 8 patients ont eu deux enregistrements polysomnographiques de 24 heures en utilisant des enregistreurs électroencéphalographiques à papier, l'un des enregistrements étant réalisé alors que le patients était porteur d'un cathéter intraveineux pour le recueil horaire de sang (Buguet et al., 1993). De la même manière au Congo (Brazzaville), 10 patients ont eu des prélèvements sanguins par cathéter toutes les 10 minutes, avant et après traitement par une cure de mélarsoprol (Buguet et al., 1999). Les patients de ces deux investigations, recrutés par une équipe de dépistage dans les villages de brousse, étaient tous au stade 2 à différents degrés de gravité. Une troisième investigation a été conduite dans le Laboratoire d'explorations fonctionnelles du Centre hospitalier universitaire de Yopougon à Abidjan, chez 5 volontaires sains, avec le même protocole expérimental qu'à Brazzaville.

Deux autres investigations utilisant des enregistreurs analogiques (Medilog 9000-II, Oxford Instruments, Oxford, Grande Bretagne) ont complété la description du syndrome polysomnographique de la THA chez des patients méningo-encéphalitiques enregistrés en ambulatoire. A Daloa et Sinfra, en Côte d'Ivoire en 1995, 26 patients ont été enregistrés chacun 24 heures. A Sinfra en 1996, 23 volontaires sains l'ont été dans les conditions de vie quotidienne en brousse.

Les patients atteints de THA au stade de méningo-encéphalite montrent au complet ce que nous pouvons appeler le syndrome du cycle veille-sommeil ou syndrome polysomnographique. Celui-ci est constitué par deux signes majeurs (Buguet et al., 2001b ; Buguet et al., 2006) :

- Le premier est représenté par la dérégulation du cycle veille-sommeil sur 24 heures, qui est proportionnelle à la gravité de la maladie. Le sommeil devient progressivement de plus en plus polyphasique, des épisodes de sommeil de

plus en plus courts survenant à n'importe quel moment du jour et de la nuit, sans prédominance nocturne chez les patients les plus atteints (Buguet, 1997 ; Buguet et al., 2001a).

- Le deuxième symptôme est constitué par l'atteinte de la structure interne du sommeil. Le sommeil paradoxal initie souvent les épisodes de sommeil (SOREMP), d'autant plus souvent que l'atteinte est sévère. Contrairement à nos attentes, les altérations morphologiques de l'EEG ne sont pas spécifiques de la THA. Elles surviennent à un stade avancé du stade 2 et ne peuvent donc pas être utilisées pour la détermination du stade évolutif.

4.2.3. – Le syndrome polysomnographique comme outil diagnostique du stade évolutif

A la suite de la mise en évidence du syndrome polysomnographique par notre groupe, deux investigations ont eu lieu en 2000 et en 2003 en Angola en utilisant des enregistreurs numériques portables (Vitaport 2, puis Vitaport 3, Temec, Kerkrade, Pays-Bas). En 2000, à Viana (banlieue de Luanda), un enregistrement de 48 heures a été réalisé chez 8 patients (4 stades 2, 3 stades 1, 1 stade intermédiaire) avant traitement et, chez 6 d'entre eux, un mois après traitement (mélarsoprol ou pentamidine, respectivement) (Buguet et al., 2005a). La deuxième investigation a été conduite en brousse sur un plateau à 1100 mètres d'altitude dans la province de Kuenza Norte (Samba Cajù et Camabatela) : 37 patients ont été enregistrés par polysomnographie de 24 heures avant traitement. Ils étaient considérés cliniquement et biologiquement comme étant au stade 1 (17 patients), au stade 2 (11 patients) ou au stade intermédiaire (9 patients). Au cours de cette dernière investigation, 15 volontaires sains ont également été enregistrés (Buguet et al., 2005b).

Ces investigations ont non seulement confirmé que le syndrome polysomnographique est constamment observé au cours du stade méningo-encéphalitique, mais aussi qu'il l'est chez un nombre non négligeable de patients au stade lymphaticosanguin. Lors de l'investigation de Viana en 2000, les 4 patients au stade 2 ont présenté le syndrome polysomnographique dans son intégralité. Cependant, un des trois patients au stade 1

et le patient « intermédiaire » ont eu au moins une SOREMP pendant l'enregistrement de 48 heures. De même, lors de l'investigation de Samba Cajù et Camabatela en 2003, 8 des 17 patients cliniquement et biologiquement au stade 1 ont montré des SOREMP et la présence de troubles de la distribution nycthémérale du sommeil plus ou moins prononcés. Cinq des 7 patients au stade intermédiaire ont également présenté le syndrome polysomnographique. Aucun sujet sain n'a présenté d'anomalie polysomnographique.

Mis à part les travaux de notre équipe, seulement quelques enregistrements polysomnographiques ont été réalisés. Monge-Strauss et al. (1996) ont présenté, lors d'un congrès de la Société française de recherche sur le sommeil, le cas d'un Congolais de République démocratique du Congo qui souffrait de troubles du comportement depuis plusieurs années ayant motivé son internement en service spécialisé à plusieurs reprises. Lors des enregistrements polysomnographiques de 48 heures, le patient souffrait aussi d'une dérégulation nycthémérale du cycle veille-sommeil avant traitement. Les troubles du sommeil se sont améliorés après une cure d'éflornithine. L'enregistrement polysomnographique nocturne pratiqué par Sanner et al. (2000) chez une Européenne de 47 ans une quinzaine de jours après qu'elle ait été infectée par *T. b. rhodesiense* lors d'un voyage touristique en Afrique de l'Est ne montrait que des signes atypiques avec une baisse de l'efficacité du sommeil. Leur patiente présentait aussi des mouvements périodiques des membres inférieurs dont il n'était pas possible de déterminer s'ils faisaient partie de la maladie ou s'ils avaient été préexistants.

Buguet et al. (2005a) ont donc proposé que les SOREMP pourraient représenter un marqueur précoce de la pénétration du trypanosome dans le système nerveux central. Notre hypothèse est que, chez les patients qui expriment les SOREMP, le trypanosome a déjà traversé la barrière hémo-encéphalique. Les patients seraient donc au début du stade 2 et il conviendrait de les traiter comme tels. Le syndrome polysomnographique pourrait donc représenter un marqueur de la pénétration du trypanosome dans le système nerveux central. Notre conclusion était que la polysomnographie de 24 heures est une technique particulièrement intéressante pour

le diagnostic du stade 2 de la THA, le suivi du traitement et la comparaison avec de nouveaux tests diagnostiques.

Les données acquises de 2005 à 2009 au Congo (Buguet et al., 2009) indiquent que, chez certains malades considérés comme étant au stade 1 ou au stade intermédiaire selon les méthodes diagnostiques conventionnelles, le syndrome polysomnographique peut être normalisé par le traitement à la pentamidine. Il est de fait connu que la pentamidine peut passer la barrière hémo-encéphalique dans une concentration telle qu'elle puisse guérir certains patients au tout début du stade neurologique (Bronner et al., 1991 ; Doua et al., 1996). Cependant, le traitement de cas neurologiques précoces par ce médicament peut être voué à l'échec (Lejon et al., 2003b), comme c'est aussi le cas pour les rechutes de certains cas précoces de stade 1 (Pépin et Khonde, 1996).

Les résultats de l'étude réalisée au Congo (Buguet et al., 2009) ont permis de définir la place de la polysomnographie dans le processus de détermination du stade évolutif de la THA. La polysomnographie n'est certes pas un « gold standard » et devrait être utilisée au sein d'un groupe de tests indépendants. Cependant, elle peut être utilisée en première intention en s'entourant des recommandations suivantes :

- en l'abence de syndrome polysomnographique, le patient sera dispensé de ponction lombaire ;
- en présence d'un syndrome polysomnographique, des tests complémentaires conventionnels devront alors être conduits.

Cette procédure permettrait de limiter l'usage de la ponction lombaire, chez l'adulte comme chez l'enfant (Mpandzou et al., 2009), augmentant ainsi le confort des patients. Elle devrait aussi faciliter la compliance des populations aux campagnes de dépistage. Elles n'auraient plus à fuir la ponction lombaire, qui ne serait plus pratiquée chez 100 % des patients diagnostiqués comme porteurs du trypanosome, mais uniquement chez les patients positifs en polysomnographie.

4.2.4. – Le syndrome polysomnographique comme outil non invasif du suivi post-thérapeutique et d'étude des séquelles neurologiques

Dans le cadre du suivi post-thérapeutique, le syndrome polysomnographique permet également de suivre de manière précise les effets du traitement sur le processus de guérison (Buguet et al., 2007a ; Buguet et al., 2007b ; Buguet et al., 2009). A partir des résultats discutés dans l'ouvrage qui vient d'être publié par Buguet et al. (2009), il est possible de faire un certain nombre de recommandations. Un sommeil normal doit être considéré comme de bon pronostic pour l'évolution de la condition du patient. Il représente aussi un marqueur de l'efficacité du traitement. Au contraire, l'existence d'un syndrome polysomnographique doit constituer un signal d'alarme. Des test biologiques invasifs devraient alors être conduits (notamment une ponction lombaire et un examen du LCR). Chez l'adulte et l'adolescent, comme chez l'enfant (Buguet et al., 2011), la polysomnographie pourrait donc remplacer la ponction lombaire et l'examen du LCR après traitement. Ce dernier serait conduit en cas de suspicion d'inefficacité thérapeutique. Au lieu de le réaliser chez 100 % des patients suivis, seuls les patients en rechute auraient à le subir.

En ce qui concerne les séquelles neurologiques chez les patients au stade 2, lors des investigations de Brazzaville en 1993 (10 patients) et de Luanda (4 patients), des enregistrements polysomnographiques ont été pratiqués avant et après traitement par 3 cures successives de mélarsoprol (3 jours par semaine : solution à 3,6 % dans des ampoules de 5 mL d'Arsobal®, injectée en injection intraveineuse lente jusqu'à atteindre 3,6 mg/kg/jour). Chez les patients les moins gravement touchés, l'atteinte du cycle veille-sommeil s'est améliorée et les SOREMP ont diminué voire disparu, parfois dès la première cure de mélarsoprol, la récupération pouvant même être complète après la troisième cure (Buguet et al., 1999). Chez les patients les plus atteints, la normalisation est progressive mais beaucoup plus lente. Ainsi, chez deux Européens ayant contracté au Rwanda une THA à *T. b. rhodesiense*, la normalisation n'a progressé que 6 à 11 mois après le traitement (Montmayeur et al., 1994).

4.2.5. – Conclusion sur la polysomnographie chez l'homme

Le syndrome polysomnographique représente un bon outil diagnostique. Lorsqu'il est absent, le patient peut être considéré comme étant au stade 1. Les analyses conventionnelles conduites sur le LCR peuvent alors être évitées et le patient peut être traité par pentamidine.

Le syndrome polysomnographique permet de suivre l'efficacité du traitement entrepris. La polysomnographie représente un excellent outil du suivi post-thérapeutique. Il est aujourd'hui possible d'espérer que l'on puisse prochainement s'affranchir des méthodes invasives utilisées actuellement, et ainsi éviter au patient de subir 4 à 5 ponctions lombaires de contrôle réalisées dans les conditions du terrain.

Le troisième intérêt de l'enregistrement polysomnographique, en liaison avec les méthodes invasives, est la détection des séquelles neurologiques liées à l'administration du traitement ou bien au génie évolutif propre de la maladie. Ainsi, chez un de nos patients au stade 2 traité par mélarsoprol, après une amélioration transitoire après traitement, le syndrome polysomnographique est réapparu alors que le comptage cellulaire était en faveur d'une normalisation, indiquant ainsi une persistance séquellaire des anomalies du sommeil, dont nous savons qu'elles peuvent persister longtemps après le traitement (Montmayeur et al., 1994).

5. - Les nouvelles pistes du diagnostic

De nouvelles technologies utilisées ou potentiellement appliquées dans le diagnostic de la THA ont été revues par Jannin et Cattand (2004).

5.1. - Les méthodes d'imagerie

L'imagerie radiologique par la pneumo-encéphalographie a été décrite par Gallais et al. (1956) chez 20 patients. Les altérations sont minimes au niveau du cortex, l'image en verre dépoli rencontrée dans certaines zones étant en faveur d'une arachnoïdite. En revanche, les altérations sous-corticales sont plus importantes, avec une dilatation des ventricules latéraux variable d'un patient à l'autre. La citerne basale est considérablement agrandie. Ces travaux sont décrits en détail dans la thèse de Dutertre (1955), accessible sur Internet.

La tomographie informatisée (computed tomography) céphalique, comme l'imagerie par résonance magnétique axiale (Axial Magnetic Resonance Imaging, MRI) est en général normale, sauf à un stade avancé de démyélinisation ou lors d'une encéphalopathie arsenicale réactionnelle (Braakman et al., 2006 ; Checkley et al., 2007). Ainsi, Imbert et al. (1994) et Sanner et al. (2000) n'ont relevé aucune anomalie liée de manière évidente à une THA à *T. b. rhodesiense* contractée respectivement lors d'un séjour au Rwanda ou lors d'un voyage touristique en Zambie, Zimbabwé et Tanzanie. Bien entendu, de telles techniques ne peuvent être employées que dans les centres hospitaliers équipés de matériels lourds et coûteux. C'est d'ailleurs la raison pour laquelle, seuls les cas importés en Europe chez des personnes en séjour bref en Afrique de l'Est sont documentés avec de tels examens (Sabbah et al., 1997). Pour ces derniers auteurs, l'imagerie par résonance magnétique est un moyen de suivre l'évolution des lésions de méningo-encéphalite (lésions symétriques focales de la substance blanche profonde de la capsule interne, du cervelet, du corps calleux), et de les distinguer des images de l'encéphalopathie réactive au traitement par les arsenicaux (lésions d'encéphalite hémorragique et œdème cérébral). Cette technique permet d'adapter le traitement aux lésions observées en imagerie.

5.2. - L'approche protéomique et métabolique

L'approche protéomique est basée sur le concept de l'existence de configurations particulières des différentes protéines circulantes dans les états pathologiques. En effet, il est exceptionnel qu'une maladie soit révélée par un seul test diagnostic basé sur la détection d'une seule protéine. Une telle configuration impliquant plusieurs protéines est appelée empreinte protéomique (proteomic fingerprint). Les récents progrès réalisés en spectrométrie de masse, tels que le « surface-enhanced laser desorption-ionization time-of-flight (SELDI-TOF) » ont révolutionné l'analyse du profil des protéines du sérum (Agranoff et al., 2005). Cette technique, jointe à reconnaissance de profils différents par des ordinateurs capables d'apprentissage (réseau de neurones, algorithme génétique et arbre de décision), a permis d'identifier des combinaisons de protéines cachées au sein du protéome sérique. En principe, la détection de protéine d'origine parasitaire devrait donc être suffisante pour établir le diagnostic et/ou le stade de la THA. L'étude de Papadopoulos et al. (2004) montre sans équivoque qu'il existe bien une empreinte protéomique du sérum dans la THA à *T. b. gambiense*. En comparant l'empreinte de sérums de patients atteints de THA à celle d'autres maladies parasitaires, les auteurs ont montré que la méthode est extrêmement sensible (100 %) et a une haute spécificité (98,6 %). Cependant, la technique utilise un équipement très sophistiqué et coûteux qui n'existe pas en Afrique et n'y sera sans doute jamais disponible, ainsi qu'une chaîne du froid extrêmement performante. Mais le potentiel réel de la technique réside dans son utilisation pour déterminer de nouveaux marqueurs biologiques pouvant être incorporés dans des tests diagnostics de terrain. L'identification de tels marqueurs est donc l'étape suivante à accomplir, aidée en cela par la disponibilité de génomes séquencés pour le trypanosome.

La métabolomique est une méthode d'exploration très générale des organismes vivants qui décrit de façon exhaustive les différents métabolites présents dans les fluides biologiques ou dans les tissus. Utilisée dans différents contextes d'études physiologiques, elle permet de comprendre l'impact des perturbations étudiées, tant

sur le plan génétique qu'environnemental (nutrition, toxicologie, pharmacologie…). Elle permet aussi de prédire les conséquences fonctionnelles pour l'homme à partir de modèles animaux pertinents. Des applications à la THA permettront sans doute d'identifier de nouveaux marqueurs biologiques de la maladie et de nouvelles cibles thérapeutiques (Barrett et al., 2010).

5.3. - L'approche génomique

La mise à disposition de génomes séquencés de trypanosomes offre le potentiel d'affiner la recherche de nouveaux marqueurs pour le sérodiagnostic de la THA (Hutchinson et al., 2004). Les étapes à parcourir sont : l'identification de protéines spécifiques du trypanosome sans réactivité croisée avec des protéines d'autres pathogènes ; la sélection d'une ou de protéines invariantes dans les différentes souches du pathogène ; la sélection d'une protéine suffisamment abondante laissant augurer d'une grande quantité d'antigène circulant détectable ; la sélection d'une protéine capable d'induire une réponse immunitaire forte afin de détecter facilement les anticorps produits. Une liste de protéines candidates a été établie par Hutchinson et al. (2004). Il s'agit tout d'abord du gène associé à la résistance du sérum dans les infections (serum-resistance-associated, *SRA*, gene) à *T. b. rhodesiense*, dont l'expression est une condition nécessaire et suffisante pour l'infection de l'homme, car ce gène n'existe que chez *T. b. rhodesiense*. Cependant, en raison de sa provenance, le gène *SRA* a des analogies structurales avec celui de la VSG (variant surface glycoprotein), impliquant une potentielle réactivité croisée avec elle. Un autre candidat est la glycoprotéine spécifique de la poche flagellaire de *T. b. gambiense* (*T. b. gambiense*-specific flagellar pocket glycoprotein, TgsGP), qui pourrait être la base d'un sérodiagnostic différenciant *T. b. gambiense* de *T. b. rhodesiense* dans les zones où les deux parasites co-existent. Mais ce candidat a les mêmes problèmes que le précédent. Il est cependant intéressant de savoir que les deux candidats ne réagiraient pas avec *T. vivax* ni avec *T congolense*, qui ne possèdent pas les gènes correspondants.

5.4. – L'analyse des auto-anticorps

De nombreux auto-anticorps sont produits au cours de la THA. Les auto-anticorps sont dirigés contre les globules rouges (Kobayakawa et al., 1979), le muscle lisse (Wolga et al., 1981), le foie et les cardiolipides (Mackenzie et Boreham, 1974), les acides nucléiques ADN et ARN (Kobayakawa et al., 1979 ; Hunter et al., 1992), les filaments intermédiaires (Anthoons et al., 1986) et les facteurs rhumatoïdes (Kazyumba et al., 1986), des composants non caractérisés du système nerveux central (Asonganyi et al., 1989) et la protéine basique de la myéline (Hunter et al., 1992). Au niveau du système nerveux central, d'autres anticorps sont dirigés contre des constituants mieux précisés, tels que le L-tryptophane précurseur d'un neurotransmetteur, la sérotonine (Okomo-Assoumou et al., 1995a). La détection de ces anticorps dans le LCR de patients pourrait contribuer à un meilleur diagnostic de stade de la maladie.

5.4.1. – Les auto-anticorps anti-galactocérébrosides et anti-neurofilaments

La recherche d'auto-anticorps dirigés contre deux constituants du système nerveux central, les galactocérébrosides (GalC) de la myéline et le neurofilament (NF) du neurone, a été particulièrement étudiée (Amevigbe et al., 1992 ; Ayed et al., 1997 ; Girard et al., 2000), notamment au Congo (Billac, 2007). Les anticorps anti-GalC et anti-NF sont vraisemblablement induits par mimétisme moléculaire en raison de structures épitopiques communes au parasite et aux cellules nerveuses. Les anticorps anti-GalC donnent une réaction croisée avec des antigènes membranaires du parasite et les anticorps anti-NF reconnaissent des épitopes associés au flagelle et à la membrane ondulante du trypanosome. Chez la souris Swiss, la protéine NF de 160 kDa et des protéines purifiées flagellaires de *T. b. brucei* et de *T. b. gambiense* induisent des anticorps anti-NF et anti-flagelle protecteurs contre l'infection provoquée par des formes de culture de *T. b. brucei*. Une méthode de dot-ELISA sur bandelettes de nitrocellulose permet la détection combinée des anticorps anti-GalC (sensibilité, 81,5 % ; spécificité, 93,9 %) et des anti-NF (sensibilité, 100 % ;

spécificité, 81 %) dans le LCR avec une sensibilité de 83,2 % et une spécificité de 100 % (Courtioux et al., 2005).

5.4.2. – Les auto-anticorps anti-tryptophane

Des anticorps dirigés contre les épitopes tryptophane-like ont été trouvés dans le sérum des malades atteints de THA en utilisant le L-tryptophane conjugué à la sérumalbumine de bœuf (Okomo-Assoumou et al., 1995a). Ces anticorps sont des IgM, détectés par immunoenzymologie. Ils sont en plus forte concentration chez les patients au stade 2 que dans le stade 1. Ils sont plus souvent rencontrés en cas d'atteinte neurologique dans la THA et n'ont pas été détectés dans les autres maladies neurologiques étudiées. Ces auto-anticorps n'ont pas été détectés dans le sérum de patients impaludés, infectés par le virus de l'immunodéficience humaine, dans la maladie de Parkinson et dans la maladie de Chagas (Okomo-Assoumou et al., 1995a). Ils n'ont pas été retrouvés chez les patients narcoleptiques en Europe (Buguet et Vincendeau, communication personnelle, 1996). Récemment, il a été montré qu'il existe un épitope tryptophane-like dans la structure de la VSG de plusieurs espèces de trypanosomes (Semballa et al., 2007).

5.4.3. – Les auto-anticorps anti-néoépitopes nitrosylés

Des anticorps dirigés contre des épitopes nitrosylés (L-cystéine et L-tyrosine) ont été mis en évidence dans le sérum de patients atteints de THA, alors qu'ils sont absents chez des sujets volontaires sains de la même zone d'endémie et chez des Africains vivant en France (Semballa et al., 2004). Les patients au stade 2 ont présenté des taux sériques d'anticorps plus élevés que les patients au stade 1. La présence de ces anticorps chez les patients indique que la THA s'accompagne bien de la production de monoxyde d'azote et que la formation de complexes S-nitrosylés survient *in vivo*.

5.5. – La mesure du monoxyde d'azote (NO)

Le monoxyde d'azote (NO) a été proposé comme un médiateur commun à l'interaction entre le trypanosome, d'une part, et, d'autre part, les macrophages et le

système nerveux central (Bentivoglio et al., 1994b). Notre groupe a grandement participé à la connaissance des mécanismes impliqués à ces deux niveaux, qui se comportent comme s'ils étaient vraiment séparés en deux compartiments étanches par la barrière hémato-encéphalique.

5.5.1. – Généralités sur le NO

A l'état gazeux, le NO est un messager biologique dont la distribution tissulaire est relativement ubiquitaire. Il intervient dans la régulation de fonctions physiologiques très différentes (circulation sanguine, motilité gastro-intestinale, processus de mémorisation, cycle veille-sommeil, etc.) et dans diverses pathologies (Gautier-Sauvigné et al., 2005). Le NO a une demi-vie de l'ordre de la seconde. Il est synthétisé dans les cellules de mammifères à partir de la L-arginine où il est co-libéré avec la L-citrulline. Ce composé labile est ensuite oxydé sous forme de nitrites (NO_2^-) et de nitrates (NO_3^-). Sa synthèse est catalysée par la famille des NO-synthases (NOS) qui existent sous trois isoformes héminiques essentielles. Deux isoformes sont de nature constitutive et sont dépendantes du calcium et de la liaison avec la calmoduline (cNOS). Ces enzymes sont contenues dans les cellules endothéliales (eNOS) et les neurones (nNOS). Au niveau de la cellule cible, le NO induit la nitrosylation de la guanylate cyclase, qui stimule la production du GMP cyclique. La troisième isoforme des NO-synthases est de nature inductible (iNOS) et indépendante d'une entrée de calcium dans la cellule. Elle est contenue dans les macrophages et la microglie et est activée par certaines cytokines, telles que l'interféron-γ (IFN-γ) et le "tumor necrosis factor-α" (TNF-α), en combinaison avec le LPS (lipopolysaccharide) bactérien.

5.5.2. – La mesure du NO

L'analyse du NO à l'état gazeux, c'est-à-dire à l'état de signal messager, est réalisée grâce à une méthode électrochimique, la voltamétrie impulsionnelle différentielle (DNPV) qui représente une mesure sélective lorsqu'elle est combinée au capteur spécifique du NO mis au point par l'équipe de Raymond Cespuglio à l'Université

Claude-Bernard de Lyon (Burlet et Cespuglio, 1997 ; Cespuglio et al., 1996). La partie active de ce capteur est une fibre de carbone pyrolytique de 30 µm de diamètre recouverte successivement de porphyrines-nickel et de nafion. La DNPV délivre, à travers un montage potentiostatique, une impulsion de potentiel de durée et d'amplitude fixes surimposée à une pré-impulsion d'amplitude croissante (Biopulse Tacussel, Radiometer, Villeurbanne, France). La base du capteur pour le NO est constituée par une fibre de carbone pyrolytique de 30 µm de diamètre. Du fait de sa grande inertie chimique et de sa résistance, ce matériau est particulièrement bien adapté à l'utilisation *in vivo* (électrode en verre) et *a fortiori in vitro* (chambre de mesure étanche). Les mesures sont réalisées toutes les deux minutes et analysées automatiquement par un logiciel du laboratoire. La valeur mesurée est la hauteur du pic d'oxydation du NO (sous un potentiel de 650 mV) qui est proportionnelle à l'intensité du courant produit par l'oxydation du NO.

Chez les patients trypanosomés, une prise de sang de 1 mL est réalisée sur les malades et les sujets sains volontaires à l'aide d'une seringue héparinée de 1 mL. Le sang est immédiatement transvasé dans la chambre d'analyse étanche d'une capacité de 0,4 mL. Chaque mesure dure environ 16 à 20 minutes, prenant en compte 8 à 10 pics d'oxydation. Le lavage de la chambre prend environ 5 minutes après chaque examen. Le NO est analysé chez tous les sujets CATT positif, la séparation entre sujets suspects et malades étant faite après que le diagnostic positif de la maladie (présence de trypanosomes) ait été établi par examen microscopique direct ou après concentration des trypanosomes sur minicolonne échangeuse d'ions. Tous les patients ont une ponction lombaire et un prélèvement de LCR pour permettre la détection parasitologique. La mesure du NO dans le LCR se fait de manière identique à celle du sang, le LCR étant introduit dans la chambre de mesure.

5.5.3. – Les données obtenues chez l'animal et chez l'homme

Dans le sang, chez des rats et des souris infectés par *T. b. brucei* par voie intra-péritonéale Par rapport aux animaux sains de contrôle, les mesures ont mis en évidence une diminution du NO au niveau du sang, proportionnellement à la durée

d'évolution de l'infection (Buguet et al., 1996). Ces données ont récemment été confirmées sur le modèle rat, la diminution du NO sanguin étant liée à une baisse importante de l'activité de la NO synthase inductible des macrophages (Amrouni et al., 2010). La diminution de l'activité iNOS des macrophages est complétée par une activation de l'arginase. Le résultat est que la L-arginine, substrat commun aux deux enzymes, est entièrement dégradée par la voie de l'arginase, qui aboutit à la synthèse d'ornithine et de polyamines. Les trypanosomes ne sont donc plus lysés par le NO et profitent de ces facteurs de croissance que sont les polyamines pour se développer et se multiplier dans les organes périphériques. En somme, le trypanosome bloque les moyens de destruction de l'hôte et détourne les réactions de ce dernier à son profit.

Dans le système nerveux central, sur les mêmes modèles, le biocapteur est introduit au niveau du cerveau pour la détection *in situ* du NO. Les mesures au niveau du cortex et dans les ventricules latéraux ont montré une augmentation du NO proportionnelle à la durée d'évolution de la maladie induite expérimentalement chez le rat (Buguet et al., 1996) et chez la souris (Buguet et al., 2002). Le mécanisme mis en œuvre dans l'accroissement de la synthèse du NO au niveau cérébral diffère de celui qui préside aux modifications observées dans le compartiment périphérique. La synthèse du NO est due à l'activation de la iNOS, non seulement au niveau des astrocytes et des cellules microgliales, mais aussi au niveau des neurones (Amrouni et al., 2010). Les processus moléculaires qui sont responsables de cette augmentation impliquent le blocage de l'arginine diméthylée asymétrique (ADMA) qui provient de la dégradation des protéines cérébrales (Amrouni et al., 2011). En effet, l'ADMA est un frein de la iNOS. Ce frein étant levé, le NO est synthétisé par toutes les cellules contenant cet enzyme. Cette augmentation du NO cérébral est très certainement délétère et nous pensons qu'elle pourrait rendre compte des séquelles neuropsychiatriques de la THA.

La diminution du NO sanguin a été vérifiée chez l'homme atteint de THA, tout d'abord au cours de deux prospections d'une dizaine de jours aux alentours de Sinfra (Buguet et al., 2002). Les valeurs du NO sanguin se sont avérées plus faibles chez les 35 malades examinés que chez les 65 suspects CATT positif non confirmés

parasitologiquement et *a fortiori* chez les 290 volontaires sains. Ces analyses se poursuivent actuellement en République du Congo (région Nord-Est du pays, le long du fleuve Congo, de Makotimpoko à Kaba Ngomba). Les données recueillies jusqu'à présent sont en total accord avec celles des campagnes conduites en Côte d'Ivoire. Elles confirment ainsi, sans ambiguïté, l'existence d'une diminution de la concentration du NO sanguin, un effet favorable à la survie du parasite dans le sang. L'investigation récente au Congo a porté, d'une part, sur le diagnostic de la THA et le diagnostic de stade avant traitement et, d'autre part, sur le suivi post-thérapeutique pendant 24 mois. Du fait de sa longue durée et de l'évolution de la perspicacité de l'outil NO, nous avons pu compléter notre approche des modifications du NO cérébral. Bien que l'ensemble de nos données nécessite encore des comparaisons avec des valeurs « témoins » (patients atteints de pathologies non parasitaires nécessitant une ponction lombaire), il apparaît que les variations du NO dans le compartiment cérébral seraient opposées à celles du compartiment sanguin (Buguet et al., 2009). Enfin, ce suivi à long terme indique que les perturbations entraînées par la THA sur le NO sanguin et cérébral, retournent à des valeurs normales dans un lapse de temps d'une année environ.

5.5.4. – Conclusion sur le NO

La mesure extemporanée du NO avec le capteur développé par Cespuglio et al. (1996) a permis de déterminer que le NO est impliqué dans la physiopathologie de la trypanosomose africaine expérimentale et humaine. La diminution du NO sanguin est certainement en partie responsable de la multiplication des trypanosomes dans le sang. Elle est due en partie à une augmentation de l'interleukine-10 dans les mêmes proportions que celle du TNF-α (Rhind et al., 1997), mais surtout à une baisse de la disponibilité en arginine en raison d'une activation de l'arginase tissulaire, notamment au niveau des macrophages (Gobert et al., 2000 ; Amrouni et al., 2010).

Les données obtenues au Congo permettent d'envisager l'utilisation de la mesure du NO comme critère de suivi post-thérapeutique. Sa normalisation est en effet un bon signe de guérison. Il est évident qu'alors, la technique devra être adaptée au terrain et

aux structures hospitalières d'Afrique intertropicale. Nous pensons éalement que les cibles moléculaires identifiées tant en périphérie qu'au niveau du systèe nerveux central pourraient servir avantageusement pour la recherche de nouvelles molécules actives, associées ou non à une supplémentation alimentaire en substrat de la iNOS, la L-arginine.

6. - En guise de conclusion : les aspects pratiques sur le terrain

6.1. – Le déroulement d'une séance de dépistage hier comme aujourd'hui

De Marqueissac (1932) rapporte la manière dont travaille une équipe de dépistage (équipe de prospection) au Togo. Avant la mise en route de la campagne de dépistage, les autorités administratives, doivent être prévenues à tous les niveaux, jusqu'à celui du chef de village. La séance débute par le recensement de la population en le comparant au recensement donné par les autorités. Puis, les villageois reçoivent une lame de verre propre sur laquelle un infirmier dépose une goutte de sang provenant de la pulpe du doigt nettoyé au préalable. Une goutte épaisse est réalisée, puis colorée au Giemsa. Après la prise de sang, la palpation ganglionnaire est effectuée et les adénopathies sont ponctionnées avec une aiguille de platine stérilisée à la flamme. Le suc ganglionnaire est repoussé à la seringue sur une lame et recouvert d'une lamelle. La préparation est transmise à un microscopiste qui l'examine immédiatement. Si le résultat est positif, une prise de sang est effectuée pour pratiquer une triple centrifugation. Le soir, le pointage des lames est effectué et le résultat reporté sur la fiche de trypanosomiase individuelle, qui est remise au malade. Sur cette fiche est aussi inscrit le traitement que doit suivre le malade. Le traitement à suivre est aussi reporté sur le cahier de traitement de l'agent sanitaire. Le traitement est alors entrepris immédiatement. Dans les régions très peuplées, l'examen des lames peut prendre plusieurs jours. Un représentant de l'équipe mobile reste alors au village le temps nécessaire.

En 1938, Raoult, également au Togo, remarque que l'examen à l'état frais du suc ganglionnaire montre des « insuffisances », l'absence de découverte des trypanosomes n'étant pas compensée par l'examen clinique, nécessairement rapide dans les conditions du terrain. Il propose alors de colorer les lames faites avec le suc ganglionnaire. Le procédé étant long, il crée une équipe mobile légère qui va examiner les villageois dans les petits villages et les campements et ramène les lames à un centre principal situé à une intersection de routes ou de pistes par exemple. L'équipe légère est chargée de retourner dans les villages pour retrouver les malades.

Aujourd'hui, depuis la mise à disposition du CATT (Magnus et al., 1978b), les campagnes de dépistage se passent de manière légèrement différente. Au Congo, lors des investigations conduites dans le cadre de nos programmes de recherche, le Programme national de lutte contre la THA, après avoir prévenu les autorités locales qui réunissent la population du village ou du campement et recensé les individus qui se présentent, une scarification à la lancette stérile est réalisée à la pulpe du doigt et le sang prélevé par capillarité dans un tube capillaire. Puis, une goutte de sang est déposée sur une carte de CATT et mélangée à l'antigène. Après rotation pendant 20 minutes, la carte est lue. Si aucune agglutination ne survient, le sujet est renvoyé à ses activités. S'il y a agglutination, le sujet est déclaré suspect et le capillaire est centrifugé pour examiner le buffy coat au microscope.

Le suspect est soumis à une palpation ganglionnaire suivie d'un prélèvement du suc ganglionnaire si cette palpation est positive. Le microscopiste examine le suc en goutte épaisse à l'état frais et une lame est réalisée pour coloration ultérieure. Puis, selon que les minicolonnes sont disponibles ou non, une prise de sang plus importante est réalisée pour centrifugation et examen du culot de la minicolonne. Si les différents tests de recherche de trypanosomes sont négatifs, un CATT sur sérum est réalisé. Si l'agglutination survient jusqu'à la dilution au 1/16, le sujet est déclaré malade. Un mL de sang est aussi réservé à la mesure du monoxyde d'azote. Puis, chaque patient volontaire est soumis à un enregistrement polysomnographique pendant 24 heures, après avoir été conduit à Mpouya, village où est dressé le laboratoire. A l'issue, tous les patients ainsi détectés subissent une ponction lombaire. Le LCR est examiné à l'état frais avec une cellule de Nageotte pour le comptage cellulaire et la détection des trypanosomes. Un tube de LCR suit par ailleurs le processus de la double centrifugation. Un mL de LCR est aussi réservé à la mesure du monoxyde d'azote. Depuis juillet 2007, un marquage par des billes recouvertes d'anticorps anti-CD19 est aussi réalisé pour marquer les lymphocytes B, témoins d'une infection du système nerveux central en cours (Buguet et al., 2007b ; Bouteille et al., 2010). Les patients déclarés comme étant au stade 1 ou intermédiaire sont traités deux ou trois jours plus tard par pentamidine intramusculaire pendant 7 à 10

jours, selon qu'ils supportent bien ou non le traitement. Puis, ils sont reconduits dans leurs villages respectifs.

6.2. – Les moyens mis en œuvre et leur succession temporelle

Pour les centres de santé ruraux en Afrique qui n'ont qu'un budget limité et doivent faire face à de multiples maladies et à des missions diverses, les techniques présentant un rapport qualité/prix important restent et resteront encore pour longtemps les outils utilisables (Fèvre et al., 2006). Ces outils incluent les examens cliniques, le CATT et la confirmation parasitologique au microscope (Abel et al., 2004). Comme au temps de Jamot (Lapeyssonie, 1987), le meilleur moyen de diagnostiquer une THA est d'avoir un microscope de bonne qualité utilisé par un microscopiste averti (Odiit et al., 2004). Pour Cattand (1999), sur le terrain, le test de choix est le Card Agglutination Trypanosomiasis test (CATT, Magnus et al. 1978b). Le test d'hémagglutination directe donne de bons résultats avec une haute sensibilité (99 %) et une haute spécificité (96 %) (Bafort et al., 1982 ; Zillmann et Albiez, 1986). Le test d'hémagglutination indirecte, peu reproductible, a été abandonné (Trypanosomiasis Indirect Hemagglutination Test ; Pinto, 1982).

Au laboratoire, le test d'immunofluorescence est le test de choix en raison de sa sensibilité élevée malgré une procédure complexe et une interprétation subjective. Il a été néanmoins utilisé sur le terrain comme outil de dépistage de masse (Duvallet et Saliou, 1978 ; Frézil et al., 1974).

Malgré cela, le dépistage de masse dans les zones de faible endémie est marqué par des résultats faussement positifs liés à la valeur intrinsèque du test et aux réactions croisées avec d'autres trypanosomes injectés par la mouche tsé-tsé. Les tests sérologiques sont plus sensibles dans la savane qu'en forêt où semble exister une séropositivité de base. D'où la nécessité d'une confirmation parasitologique de tout sujet séropositif (exposition à d'autres trypanosomes, guérison spontanée, trypanotolérance).

Lutumba et al. (2007a) divisent le coût de la THA en trois parties : le dépistage (coût du matériel, des véhicules, de l'aspect opérationnel et des réactifs) ; la confirmation

du diagnostic ; le traitement, incluant les frais d'hospitalisation et ceux des médicaments et des produits adjuvants. Le dépistage revient à 1,17 euros par personne examinée. Pour Lutumba et al. (2005), la stratégie qui combine la palpation ganglionnaire et le CATT est la plus efficace en dépistage de masse, car elle permet d'identifier 60 % des patients dans le cadre d'un scénario de base avec une prévalence de 1 % au niveau de la population. L'utilisation du CATT seul fait tomber ce chiffre à 56 %, celle de la palpation ganglionnaire seule à 40 %. Le coût moyen des tests est estimé à 0,08 USD pour la palpation ganglionnaire (2,11 USD en incluant le temps passé par un technicien à faire l'examen), 0,52 USD (0,40 USD pour Pépin et Méda, 2001) pour le CATT (0,70 USD avec le temps de travail), 2,71 USD pour la stratégie combinée, temps de réalisation compris, et 4,20 USD pour l'ensemble des tests parasitologiques de confirmation. Lorsqu'on inclue les tests de confirmation et le temps pour les réaliser, la stratégie CATT est la moins onéreuse et revient à 125 USD ; la stratégie palpation ganglionnaire revient alors à 517 USD et la stratégie combinée à 452 USD. Il faudrait au total 5 000 USD pour sauver une vie, sans compter le coût du traitement. Le traitement (Lutumba et al., 2007a) coûterait 51,32 euros par personne traitée par pentamidine et 129,92 euros par personne traitée par le mélarsoprol. Dans le même cadre, le test d'identification des lymphocytes B par la technique des billes recouvertes d'anticorps anti-CD19 reviendrait à 0,73 USD par patient (Buguet et al., 2009).

Cependant, les autres techniques n'ont pas été évaluées en termes de coût total. Malgré tous les efforts, Inojosa et al. (2006) estiment qu'au moins 20 % des personnes infectées sont perdues au cours des dépistages actifs avec les méthodes conventionnelles de diagnostic.

Les réalisations historiques dans la lutte contre la THA ont toutes été fondées sur la microscopie en routine et la surveillance régulière des populations à risque, quand la microscopie représentait le seul outil accessible du diagnostic positif de la maladie. Cette approche avait réussi à réduire presque à néant le problème de la maladie du sommeil en tant que problème de santé publique (Fèvre et al., 2006).

Qu'en est-il de l'acuité de la détection des trypanosomes dans la maladie du sommeil ? Récemment, utilisant un modèle basé sur un arbre décisionnel, Odiit et al. (2005) ont, pour la première fois, évalué la sous-détection des cas de maladie du sommeil à *T. b. rhodesiense* en Ouganda au cours de l'épidémie de 1988 à 1990. Ils ont conclu que 39 % des cas de trypanosomose humaine ne sont pas notifiés. Ils ont calculé que pour chaque mort attribuée à la maladie, 12 décès n'étaient pas détectés. Parmi 73 décès non détectés, 62 avaient été suivis au sein du système de santé.

Actuellement, le diagnostic repose essentiellement sur la détection de trypanosomes dans le sang, les ganglions lymphatiques et le LCR. Cependant, les parasites sont souvent présents à un niveau inférieur au seuil de détection, surtout en ce qui concerne la maladie à *T. b. gambiense*. Les conséquences d'un diagnostic tardif ou inadéquat sont sérieuses, surtout au regard de la toxicité des traitements du stade neurologique (Barrett et al., 2003 ; Agranoff et al., 2005). Il est maintenant temps d'intégrer les différentes approches du diagnostic, car il est devenu évident qu'un test parfait n'existe pas. Il est temps aussi d'intégrer la recherche appliquée mais aussi la recherche fondamentale, afin de développer de nouvelles approches innovantes. Comme dans d'autres pathologies et en l'absence de test « gold standard », il convient aujourd'hui de promouvoir une combinaison de tests de référence pour améliorer la précision du diagnostic de THA (Alonzo et Pepe, 1999). Il faut aussi associer les efforts des différentes disciplines impliquées dans la lutte contre la THA en concertant ceux des institutions de médecine vétérinaire, d'agriculture, de santé humaine, de recherche et des organismes bailleurs de fonds (Kioy et Mattock, 2005). Mais hier comme aujourd'hui, l'examen du liquide céphalorachidien est la clé du diagnostic initial, de la décision thérapeutique et du suivi thérapeutique (Lejon et Büscher, 2005). Le diagnostic de stade peut cependant être amélioré considérablement par l'application de la technique des lymphocytes B sur le terrain (Bouteille et al., 2010).

Par ailleurs, nous avons montré que la polysomnographie est une technique adaptable sur le terrain. Nous proposons d'utiliser des enregistreurs miniaturisés et bon marché existant depuis peu sur le marché et de réaliser un logiciel permettant de détecter

automatiquement les anomalies du syndrome polysomnographique. Si l'alarme sonne, les soignants sont alertés et pratiquent une ponction lombaire et un diagnostic conventionnel.

6.3. – Et à propos du suivi post-thérapeutique

De manière à s'assurer de l'efficacité du traitement, le LCR devrait être examiné après traitement pendant au moins deux années (WHO, 1983), même s'il semble possible de réduire cette période à seulement un an d'après une étude récente (Mumba Ngoyi et al., 2010). En effet, un patient ne peut être considéré comme guéri que deux ans après le traitement, si aucun trypanosome n'est trouvé dans le sang, les ganglions lymphatiques ou le LCR, s'il est cliniquement en bonne santé et si le LCR est redevenu normal.

Un bon suivi post-thérapeutique pose en fait plusieurs problèmes.

Les patients se sentent guéris et ne voient aucune nécessité à être soumis à un nouveau contrôle, d'autant qu'ils redoutent la ponction lombaire réalisée dans les conditions du village. Ils ont donc tendance à ne pas se présenter aux examens de contrôle post-thérapeutique, d'autant plus si ces examens sont plus éloignés du moment du traitement. Il en résulte que les patients qui sont victimes d'une rechute se rendent d'eux-mêmes au centre de traitement spécialisé et y arrivent à un stade évolutif avancé et souvent dans un état général déplorable.

Diagnostiquer une rechute n'est pas chose facile. Certes, la survenue de signes cliniques évocateurs d'une rechute représente une indication, mais ne constitue pas une preuve absolue. Les tests sérologiques restent positifs longtemps après le traitement, les anticorps restant détectables pendant plusieurs années. Il est donc illusoire de se baser sur eux pour considérer que le patient est en rechute. La détection des trypanosomes est réalisée par des techniques peu sensibles, peu fiables et il est fréquent de ne trouver les parasites que dans le LCR. Le comptage cellulaire peut aussi ne jamais retourner à la normale, surtout si le patient est atteint d'une autre affection intercurrente.

Lors du suivi post-thérapeutique aussi, la polysomnographie et la détection automatique des anomalies du sommeil pourraient avoir une place de choix parmi les outils de surveillance du suivi.

Références

Abel PM, Kiala G, Lôa V, Berend M, Musolf J, Fleischmann H, Josénando T, Krishna S, Stich A. Retaking sleeping sickness control in Angola. Trop Med Int Health 2004;9:141-8.

Abblart. Un cas d'hypnosie. Arch Méd Nav 1883;40:456-9.

Aerts D, Truc P, Penchenier L, Claes Y, Le Ray D. A kit for *in vitro* isolation of trypanosomes in the field: first trial with sleeping sickness patients in the Congo Republic. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1992;86:394-5.

Agranoff D, Stich A, Abel P, Krishna S. Proteomic fingerprinting for the diagnosis of human African trypanosomiasis. Trends Parasitol 2005;21:154-7.

Akol MN, Olaho-Mukani W, Odiit M, Enyaru J, Matovu E, Magona J, Okitoi D. Trypanosomosis agglutination card test for *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness. East Afr Med J 1999;76:38-41.

Alonzo TA, Pepe MS. Using a combination of reference tests to assess the accuracy of a new diagnostic test. Statist Med 1999;18:2987-3003.

Amevigbe MDD, Jauberteau-Marchan MO, Bouteille B, Doua F, Breton JC, Nicolas JA, Dumas M. Human African trypanosomiasis: presence of antibodies to galactocerebrosides. Am J Trop Med Hyg 1992;47:652-62.

Amrouni D, Gautier-Sauvigné S, Meiller A, Vincendeau P, Bouteille B, Buguet A, Cespuglio R. Cerebral and peripheral changes occurring in nitric oxide (NO) synthesis in a rat model of sleeping sickness: identification of brain iNOS expressing cells. Plos One 2010, 5(2):e9211.

Amrouni D, Meiller A, Gautier-Sauvigné S, Piraud M, Bouteille B, Vincendeau P, Buguet A, Cespuglio R. Cerebral changes occurring in arginase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) in a rat model of sleeping sickness. Plos One, 2011 in press;

Anonyme. Observations sur la pathologie de la léthargie ; par M. R. Clark, médecin à Sierra-Leone. Gaz Méd Paris 1843:109-10.

Anonyme. Sur la maladie du sommeil, par le docteur Griffon du Bellay. Gazette Hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie 1864;24:400-1.

Anonyme. Observation d'un cas de maladie du sommeil (hypnosie). Arch Méd Nav 1868;9:311-2.

Anonyme. Sur les analogies qui semblent exister entre le choléra des poules et la maladie du sommeil (nélavane) – Note de M. Talmy, séance du 26 avril 1880 de l'Académie des sciences. Gaz Hebd Méd Chir 1880;19:299-300.

Anonyme. La maladie du sommeil en Afrique par Stephen Mackenzie. Mercredi Méd 1890;47:597-8.

Anonyme. Des trypanosomes chez l'homme. Caducée 1902:216.

Anonyme. Un cas d'irido-cyclite chez un Européen atteint de maladie du sommeil. Ann Hyg Méd Col 1911;14:639-41.

Anonyme. Conférence africaine sur la tsé-tsé et la trypanosomiase. Brazzaville, 2-8 février 1948. Paris: La Documentation française; 1948:1-441.

Anonyme. Trypanosomiase humaine africaine (maladie du sommeil) : mise à jour épidémiologique. Weekly Epidemiol Rec 2006;8:71-80.

Anonymous. "Negro lethargy" or "sleeping sickness". Br Med J 1890;ii:1100-1.

Anonymous. The tsetse fly disease in Zululand. Lancet 1896;i:1148.

Anonymous. Bruce and trypanosomiasis. Br Med J 1897;i:691.

Anonymous. The Congo sleeping sickness: its etiology and histology. Lancet 1899;ii:1095-7.

Anonymous. Sleeping sickness in Prince's Island and the Province of Angola. Lancet 1902a;ii:885-8.

Anonymous. *Trypanosoma* occurring in the blood of man. Lancet 1902b;ii:1391.

Anonymous. The pathology of sleeping sickness. Lancet 1902c;ii:1394-5.

Anonymous. The tsetse fly and sleeping sickness. Lancet 1903a;ii:636.

Anonymous. *Trypanosoma* in sleeping sickness. Br Med J 1903b;i:1218.

Anonymous. Tropical diseases. Lancet 1903c;ii:542-3.

Anonymous. The distribution of sleeping sickness and its relation to *Filaria perstans* and to trypanosomiasis. Lancet, 1903d;ii:542.

Anonymous. The etiology of sleeping sickness. Lancet 1903e;ii:769.

Anonymous. Epidemiological Society. Sleeping sickness. Lancet 1903f;ii:1721-4.

Anonymous. The etiology of sleeping sickness. Lancet 1903g; ii:1730-5.

Anonymous. Sleeping sickness. Lancet 1904a;i:241-2.

Anonymous. Sleeping sickness in Uganda. Lancet 1904b;i:543.

Anonymous. The pathological agent of human trypanosomiasis. Lancet 1904c;i:1240.

Anonymous. Trypanosomiasis. Lancet 1904d;ii:463.

Anonymous. La Maladie du Sommeil: Rapport par la Mission envoyée en Afrique Occidentale Portugaise. (Report of the Commission on Sleeping Sickness in Portuguese West Africa.) By Annibal Bettencourt, Ayres Kopke, Gomes de Bezende, and Correa Mendes. Lisbon: Imprimerie de Libanio da Silva. 1903. With plates. Pp. 280. Lancet 1904e;i:1507-8.

Anonymous. Reports of the Commission on sleeping sickness of the Royal Society. Lancet 1905;ii:780.

Anonymous. The cerebro-spinal fluid in sleeping sickness. Lancet 1909;i:780-1.

Anonymous. Sleeping sickness in Uganda. Lancet 1910;i:263-4.

Ansede JH, Anbazhagan M, Brun R, Easterbrook JD, Hal JE, Boykin DW. *O*-alkoxyamidine prodrugs of furamidine: *in vitro* transport and microsomal metabolism as indicators of *in vivo* efficacy in a mouse model of *Trypanosoma brucei rhodesiense* infection. J Med Chem 2004;47:4335-8.

Anthoons JA, Van Marck EA, Gigase PL. Autoantibodies to intermediate filaments in experimental infections with *Trypanosoma brucei gambiense*. Z Parasitenkd 1986;72:443-52.

Apted FIC. Clinical manifestations and diagnosis of sleeping sickness. In: The African trypanosomiases. Mulligan HW, Potts WH, Kershaw WE. London: George Allen and Unwin Ltd.; 1970:661-83.

Arendt J, Borbely AA, Franey C, Wright J. The effect of chronic small doses of melatonin in the late afternoon on fatigue in man: a preliminary study. Neurosci Lett 1984;45:317-21.

Arnaud O. Rôle du pneumocoque dans la pathogénie de la maladie du sommeil, par

M.E. Marchoux (Ann. Inst. Pasteur, 1899, 3, 193). Arch Méd Pharm Mil 1899;33:393-5.

Asonganyi T, Lando G, Ngu JL. Serum antibodies against human brain myelin proteins in Gambian trypanosomiasis. Ann Soc Belge Méd Trop 1989;69:213-21.

Atkins J. The Navy surgeaon or, a practical system of surgery. London: Caesar Ward and Richard Chandler; 1734.

Austen EE. A monograph of the tsetse flies (Genus *Glossina*), based on the collection in the British Museum. Longmans and Co.: London; 1903.

Ayed Z, Brindel I, Bouteille B, van Meirvenne N, Doua F, Houinato D, Dumas M, Jauberteau MO. Detection and characterization of autoantibodies directed against neurofilament proteins in human African trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg 1997;56:1-6.

Bado JP. Médecine coloniale et grandes endémies en Afrique. Lèpre, trypanosomiase humaine et onchocercose. Paris: Editions Karthala; 1996.

Bafort JM, Schutte CHJ, Gathiram V. Specificity of the Testryp CATT card agglutination test in a non-sleeping sickness area of Africa. S Afr Med J 1986;69;541-2.

Bagshawe AG. An address on recent advances in our knowledge of sleeping sickness. Lancet 1909;ii:1193-7.

Bailey JW, Smith DH. The use of acridine orange QBC technique in the diagnosis of African trypanosomiasis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1992;86:630.

Bailey JW, Smith DH. The quantitative buffy coat for the diagnosis of trypanosomes. Trop Doct 1994;24:54-6.

Bailey NM, Cunningham MP, Kimber CD. The indirect fluorescent antibody technique applied to dried blood for use as a screening test in the diagnosis of human trypanosomiasis in Africa. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1967;61:696-700.

Baker CJ. Three cases of trypanosoma in man in Entebbe, Uganda. Br Med J 1903;i:1254-6.

Baker CJ, Hood T, Hunt EL, de Boissière RF, Lecesne GI, Davitt AH, da Cunha E, Lunn J, Belilios RA, Fletcher W, O'Dea ME, Hancock T, Hungerford G, Blair MC. Note on the discovery of the human trypanosome. Lancet 1902;ii:1487-8.

Barrett MP. The fall and rise of sleeping sickness. Lancet 1999;353:1113-4.

Barrett MP. The rise and fall of sleeping sickness. Lancet 2006;367:1377-8.

Barrett MP. Potential new drugs for human African trypanosomiasis: some progress at last. Curr Opin Infect Dis 2010;23:603-8.

Barrett MP, Burchmore RJS, Stich A, Lazzari JO, Frassh AC, Cazzulo JJ, Krishna S. The trypanosomiases. Lancet 2003;362:1469-80.

Barrett MP, Bakker BM, Breitling R. Metabolomic systems biology of trypanosomes. Parasitology 2010;1-6 [Epub ahead of print].

Bennett GF. The haematocrit centrifuge for laboratory diagnosis of hematozoa. Can J Zool 1962;40:124-5.

Bentivoglio M, Grassi-Zucconi G, Peng ZC, Bassetti A, Edlund C, Kristensson K. Trypanosomes cause dysregulation of *c-fos* expression in the rat suprachiasmatic nucleus. NeuroReport 1994a;5:712-4.

Bentivoglio M, Grassi-Zucconi G, Olsson T, Kristensson K. *Trypanosoma brucei* and the nervous system. Trends Neurosci 1994b;17:325-9.

Bentley WH. Sleeping sickness. Lancet 1899;i:93.

Berge B, Chevrier C, Blanc A, Rehaïlia M, Bourdon L, Hassnaoui M, Dorkenoo M, Buisson B, Cespuglio R, Buguet A. Etude longitudinale de la température corporelle et de l'activité motrice au cours de la trypanosomose expérimentale chez le rat. In : Buisson B, Blanc A (eds.). Sur quelques aspects de la chronobiologie. Saint-Etienne: Publications de l'Université de Saint-Etienne; 2004:265-71.

Berriman M, Ghedin E, Hertz-Fowler C, Blandin G, Renauld H, Bartholomeu DC, Lennard NJ, Caler E, Hamlin NE, Haas B, Böhme U, Hannick L, Aslett MA, Shallom J, Marcello L, Hou L, Wickstead B, Alsmark UC, Arrowsmith C, Atkin RJ, Barron AJ, Bringaud F, Brooks K, Carrington M, Cherevach I, Chillingworth TJ, Churcher C, Clark LN, Corton CH, Cronin A, Davies RM, Doggett J, Djikeng A, Feldblyum T, Field MC, Fraser A, Goodhead I, Hance Z, Harper D, Harris BR,

Hauser H, Hostetler J, Ivens A, Jagels K, Johnson D, Johnson J, Jones K, Kerhornou AX, Koo H, Larke N, Landfear S, Larkin C, Leech V, Line A, Lord A, Macleod A, Mooney PJ, Moule S, Martin DM, Morgan GW, Mungall K, Norbertczak H, Ormond D, Pai G, Peacock CS, Peterson J, Quail MA, Rabbinowitsch E, Rajandream MA, Reitter C, Salzberg SL, Sanders M, Schobel S, Sharp S, Simmonds M, Simpson AJ, Tallon L, Turner CM, Tait A, Tivey AR, Van Aken S, Walker D, Wanless D, Wang S, White B, White O, Whitehead S, Woodward J, Wortman J, Adams MD, Embley TM, Gull K, Ullu E, Barry JD, Fairlamb AH, Opperdoes F, Barrell BG, Donelson JE, Hall N, Fraser CM, Melville SE, El-Sayed NM. The genome of the African trypanosome *Trypanosoma brucei*. Science 2005;309:416-22.

Bert J, Collomb H, Fressy J, Gastaud H. Etude électrographique du sommeil nocturne au cours de la trypanosomiase humaine africaine. In: Fischgold H (Ed.). Le sommeil de nuit normal et pathologique, études électroencéphalographiques. Paris: Masson; 1965:334-52.

Bertrand E. La trypanosomiase humaine africaine. In : Pathologie exotique. Martin M, Charmot G, Mafart Y, Peloux Y, Bertrand E, Mulet M, Bezon A, Saint-André P., Valentin L (Eds.). Paris: Editions Doin; 1965:135-56.

Bertrand E, Baudin L, Vacher R, Ducasse B, Sentilhes L, Veyret V. Les signes cardio-vasculaires dans la trypanosomiase africaine à *T. b. gambiense*. Méd Trop 1967;27:381-6.

Bertrand E, Rive J, Série F, Kone I. Encéphalopathie arsenicale et traitement de la trypanosomiase humaine africaine. Méd Trop 1973;33:385-90.

Bestion. Etudes sur le Gabon, son sol, son climat, ses habitants et ses maladies (suite et fin). Arch Méd Nav 1881;36:401-21.

Bettencourt A, Kopke A, de Rezende JG, Mendes AC. Note on the etiology of the sleeping sickness. Lancet 1903a;i:1438-40.

Bettencourt A, Kopke A, Rezende JGD, Mendes AC. La maladie du sommeil. Rapport présenté au Ministère de la marine et des colonies par la mission envoyée

en Afrique occidentale portugaise. Lisbonne: Imprimerie de Libanio da Silva; 1903b.

Billac A. Trypanosomose humaine africaine : valeur de recherche d'auto-anticorps dirigés contre des constituants du système nerveux central dans le diagnostic et le suivi post-thérapeutique. Mémoire de Mastère 2 recherche. Limoges: dactyl. Université de Limoges; 2007.

Billiard M, Dauvilliers Y. Les troubles du sommeil. Paris: Masson; 2005.

Bisser S. Le diagnostic de l'atteinte nerveuse dans la maladie du sommeil. Réévaluation des critères de terrain et apport des marqueurs neuro-immunologiques. Thèse de doctorat d'université. Limoges: dactyl. Université de Limoges; 2001.

Bisser S, Bouteille B, Sarda J, Stanghellini A, Ricard D, Jauberteau MO, Marchan F, Dumas M, Breton JC. Apport des examens biochimiques dans le diagnostic de la phase nerveuse de la trypanosomiase humaine africaine. Bull Soc Path Ex 1997;90:321-6.

Bisser S, Lejon V, Preux PM, Bouteille B, Stanghellini A, Jauberteau MO, Büscher P, Dumas M. Blood-cerebral fluid barrier and intrathecal immunoglobulins compared to field diagnosis of central nervous system involvement in sleeping sickness. J Neurol Sci 2002;193:127-35.

Bitonti AJ, McCann PP, Sjoerdsma A. Necessity of antibody response in the treatment of African trypanosomiasis with a-difluoromethylornithine. Biochem Pharmacol 1986;35:331-4.

Blum J, Schmid C, Burri C. Clinical aspects of 2541 patients with second stage human African trypanosomiasis. Acta Trop 2006;97:55-84.

Boa FY, Traore MA, Doua F, Kouassi-Traore MT, Giordano C. Les différents aspects cliniques actuels de la THA à *T.b.g*. Analyse de 300 dossiers du foyer de Daloa, Côte d'Ivoire. Bull Soc Path Ex 1988;81:427-44.

Boné GJ, Charlier J. L'hémagglutination indirecte en capillaire : une méthode de diagnostic de la trypanosomiase applicable sur le terrain. Ann Soc Belge Méd Trop 1975;55:559-69.

Borremans P, Van Bogaert L. Les manifestations extra-pyramidales de la trypanosomiase chez l'Européen (syndrome d'inhibition avec stéréotypies, pigmentations cutanées symétriques et anneau cornéen). J Belge Neurol Psychiat 1933;33:561-88.

Bourgeade A, Nosny Y, Faugère B, Pène P. Trypanosomiase africaine à forme ictéro-hémorragique. Bull Soc Path Ex 1985;78:908-13.

Bouteille B. Agents de la trypanosomose humaine africaine. In : Encyclopédie médico-biologique - Parasitologie, Bourée P et Chabasse D, coordinateurs. Paris: Elsevier; 2002:2-9.

Bouteille B, Dumas M. La trypanosomiase humaine africaine : les défis à relever pour une maladie reémergente. Méd Trop 1999;29:20-4.

Bouteille B, Mpandzou G, Cespuglio R, Ngampo S, Peeling RW, Vincendeau P, Buguet A. Cerebrospinal fluid B lymphocyte identification for diagnosis and follow-up in human African trypanosomiasis. Trop Med Int Health 2010;15:454-61.

Bovill EW. The silent trade of Wangara. Afr Aff (London) 1929;29:27-38.

Boyce R, Ross R, Sherrington CS. Note on the discovery of the human trypanosome. Lancet 1902;ii:1426.

Braakman HM, van de Molengraft FJ, Hubert WW, Boerman DH. Lethal African trypanosomiasis in a traveler: MRI and neuropathology. Neurology 2006;66:1094-6.

Braid J. Arsenic as a remedy for the bite of the tsetse. Br Med J 1858;i:214-5.

Brandenberger G, Follenius M, Simon C, Ehrhart J, Libert JP. Nocturnal oscillations in plasma renin activity and REM-NREM sleep cycles in humans: a common regulatory mechanism? Sleep 1988;11:242-50.

Brandenberger G, Buguet A, Spiegel K, Stanghellini A, Muanga G, Bogui P, Montmayeur A, Dumas M. Disruption of endocrine rhythms in sleeping sickness with preserved relationship between hormone pulses and sleep structure. J Biol Rhythms 1996;11:258-67.

Brault J. Contribution à la géographie médicale des maladies africaines. Janus 1898:36-42.

Brault J. La maladie du sommeil. In: Brault J (Ed.). Traité pratique des maladies des pays chauds et tropicaux. Paris: Librairie J.-B. Baillière et Fils; 1900:504-15.

Briquet. Rapports entre la maladie du sommeil et le myxoedème. Presse Med 1898;74:139-40.

Broden A. La maladie du sommeil. Communication préliminaire. Bull Acad Roy Méd Belg 1901:750-60.

Broden A, Rhodain J. Le liquide cérébro-spinal dans la trypanosomiase humaine. Bull Soc Path Ex 1908a;1:496-9.

Broden A, Rodhain J. Le traitement de la trypanosomiase humaine. Arch Sch Trop Hyg 1908b;12:14.

Broden A, Rodhain J. Rapport sur les travaux faits au Laboratoire de la Société belge d'études coloniales à l'hôpital des Noirs et au Lazaret pour trypanosomiés à Léopoldville (Congo belge) 1907-1908. Société belge d'études coloniales ed. Bruxelles: Hayez, Imprimeur des Académies royales de Belgique; 1908c.

Bronner U, Doua F, Ericsson O, Ericsson O, Burri C, Keiser J, Miézan TW, Boa YF, Rombo L, Gustafsson LL. Pentamidine concentrations in plasma, whole blood and cerebrospinal fluid during treatment of *Trypanosoma gambiense* infection in Côte d'Ivoire. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1991;85:608-11.

Bruce D. Preliminary report on the tsetse fly disease or nagana in Zululand. Ubombo, December 1895. Bennett and Davis: Durban, 1895.

Bruce D. Further report on the tsetse fly disease or nagana in Zululand. Ubombo, 29 May 1896. London, 1897.

Bruce D. Note on the discovery of a new *Trypanosoma*. Lancet 1902;i:664.

Brumpt, Wurtz R. Agglutination de *Trypanosoma castellanii* Kruse, parasite de la maladie du sommeil. 1903:1555.

Brun R, Balmer O. New developments in human African trypanosomiasis. Curr Opin Infect Dis 2006;19:415-420.

Brutsaert P, Henrard C. L'hémoculture comme moyen auxiliaire de diagnostic de la maladie du sommeil. C R Soc Biol 1938;127:1469-72.

Buguet A. Circadian disorders in sleeping sickness. Neurol Infect Epidemiol 1997;2:288-95.

Buguet A. Is sleeping sickness a circadian disorder? The serotonergic hypothesis. Chronobiol Int 1999;16:477-89.

Buguet A, Pétieu R, Gati R. Etude polygraphique du sommeil de sujets africains au Niger. Presse Méd 1988;17:1815.

Buguet A, Gati R, Sèvre JP, Develoux M, Bogui P, Lonsdorfer J. 24-hour polysomnographic evaluation in a patient with sleeping sickness. Electroenceph Clin Neurophysiol 1989;72:471-8.

Buguet A, Gati R, Pétieu R, Hankourao O, Wamba B, Montmayeur A. Le sommeil en zone sahélienne. Méd Armées 1991;19:385-7.

Buguet A, Bert J, Tapie P, Tabaraud F, Doua F, Lonsdorfer J, Bogui P, Dumas M. Sleep-wake cycle in human African trypanosomiasis. J Clin Neurophysiol 1993;10:190-6.

Buguet A, Burlet S, Auzelle F, Montmayeur A, Jouvet M, Cespuglio R. Dualité d'action du monoxyde d'azote dans la trypanosomose africaine expérimentale. C R Acad Sci Paris 1996;319:201-7.

Buguet A, Tapie P, Bert J. Reversal of the sleep-wake cycle disorder of sleeping sickness after trypanosomicide treatment. J. Sleep Res 1999;8:225-35.

Buguet A, Bourdon L, Bisser S, Chapotot F, Radomski MW, Dumas M. La maladie du sommeil : trouble majeur des rythmes circadiens. Méd Trop 2001a;61:328-39.

Buguet A, Bourdon L, Bouteille B, Cespuglio R, Vincendeau P, Radomski MW, Dumas M. The duality of sleeping sickness: focusing on sleep. Sleep Med Rev 2001b;5:139-53.

Buguet A, Banzet S, Bouteille B, Vincendeau P, Tapie P, Doua F, Bogui P, Cespuglio R. NO a cornerstone in sleeping sickness: voltammetric assessment in mouse and man. In: Adaptation Biology and Medicine, Vol. 3: New Frontiers.

Moravec J, Takeda N, Singal PK (eds.). Narosa Publishing House, New Dehli, India; 2002:222-30.

Buguet A, Bouteille B, Cespuglio R. Enseignement au certificat optionnel de médecine tropicale : trypanosomiase humaine africaine, Ecole du service de santé des armées, Lyon-Bron: 2004.

Buguet A, Bouteille B, Cespuglio R. Enseignement au certificat optionnel de médecine tropicale : trypanosomiase humaine africaine, Ecole du service de santé des armées, Lyon-Bron: 2005.

Buguet A, Bisser S, Josenando T, Chapotot F, Cespuglio R. Sleep structure: a new diagnostic tool for stage determination in sleeping sickness. Acta Trop 2005a;93:107-17.

Buguet A, Bisser S, Josenando T, Chapotot, Cespuglio R, Dumas. Polysomnographie : diagnostic non invasif du stade nerveux de la trypanosomose humaine africaine. Journées de neurologie de langue française, Marseille, 27-30 avril 2005. Résumé in : Rev. Neurol. (Paris) 2005b:2S151.

Buguet A, Chapotot F, Bisser S, Cespuglio R, Bouteille B. Sleeping sickness: human African trypanosomiasis. In: Lee-Chiong LT (Ed.). Sleep: A comprehensive handbook. Hoboken: Wiley; 2006:163-73.

Buguet A, Bouteille B, Vincendeau P, Bisser S, Chapotot F, Cespuglio R. Progress Report and Research Renewal of the project “polysomnography, electrochemistry, immunology and neuroanatomy to the diagnosis of human African trypanosomiasis” TDR/WHO Collaborative project N° A50468. Lyon, 5 February, 2007a. Pp. 26.

Buguet A, Mpandzou G, Bisser S, Bouteille B, Vincendeau P, Cespuglio R, Bambi, JC, Mouanda D, Obanda F, Botokou Eboko JC, Ngampo S, Ibombo MJ, Ossié D, Louya F, Lemboumi S, Diambounda J, Semet S,. Rapport de mission n° 11 en République du Congo (Brazzaville) du 24 janvier au 5 février 2007 dans le cadre du projet intitulé : « Lutte contre la maladie du sommeil : vers un diagnostic du stade évolutif de la maladie du sommeil ou trypanosomose humaine africaine (THA). Aspects sur le terrain chez l’homme », Lyon, 17 août 2007b:1-49.

Buguet A, Bouteille B, Mpandzou G, Chapotot F, Ngampo S, Obanda F, Vincendeau P, Cespuglio R. La recherche sur la maladie du sommeil (trypanosomose humaine africaine) en République du Congo de 2004 à 2009. Rapport final (N° 15) de l'investigation intitulée : « Lutte contre la maladie du sommeil : programme de recherche et de formation ; vers un diagnostic du stade évolutif de la maladie du sommeil ou trypanosomose humaine africaine (THA) ; aspects sur le terrain chez l'homme ». Editions Les Manguiers, Brazzaville, 2009 : 336 p.

Burlet S, Cespuglio R. Voltammetric detection of nitric oxide (NO) in the rat brain: its variation through the sleep-wake cycle. Neurosci Lett 1997;226:131-5.

Büscher P, Lejon V. Diagnosis of human African trypanosomiasis. In: Maudlin I, Holmes PE, Miles MA. The trypanosomiases. Wallingford, UK, and Cambridge, Mass., USA: CABI Publishing; 2003: 203-218.

Büscher P, Depla E, Magnus E, van Meirvenne N. A serodiagnostic ELISA using variable antigens of *Trypanosoma brucei gambiense*. In: Sones KR. Twenty-second meeting of the international scientific council for trypanosomiasis research and control (ISCTRC). OUA/STRC, Nairobi, 1995:46-52.

Büscher P, Lejon V, Magnus E, van Meirvenne N. Improved latex agglutination test for detection of antibodies in serum and cerebrospinal fluid of *Trypanosoma brucei gambiense* infected patients. Acta Trop 1999;73:11-20.

Büscher P, Bin Shamamba SK, Ngoyi DM, Pyana P, Baelmans R, Magnus E, Van Overmeir C. Susceptibility of *Grammomys surdaster* thicket rats to *Trypanosoma brucei gambiense* infection. Trop Med Int Health 2005;10:850-5.

Büscher P, Mumba Ngoyi D, Kaboré J, Lejon V, Robays J, Jamonneau V, Bebronne N, Van der Veken W, Biéler S. Improved Models of Mini Anion Exchange Centrifugation Technique (mAECT) and Modified Single Centrifugation (MSC) for sleeping sickness diagnosis and staging. Plos Negl Trop Dis 2009;3:e471.

Cagigal A, Lepierre C. La maladie du sommeil et son bacille. C R Soc Biol 1898:89-92.

Cagnacci A, Elliott JA, Yen SSC. Melatonin: a major regulator of the circadian rhythm of core temperature in humans. J Clin Endocrinol Metab 1992;75:447-52.

Calmette A. La maladie du sommeil et les rapports avec la pellagre. Arch Méd Nav 1888;5:321-39.

Carles J. De l'émigration. Relation médico-hygiénique de cinq voyages à l'émigration africaine et indienne de 1858 à 1862. Thèse de doctorat en médecine. Montpellier: Université de Montpellier; 1863.

Carrié J, Challier A, Durand B, Duvallet G, Laveissière C. La trypanosomiase humaine à *Trypanosoma* (*Trypanozoon*) *gambiense* Dutton et ses vecteurs en Afrique Occidentale et Centrale. Document OCEAC – ORSTOM – OCCGE ; 1980:1-58.

Cassone VM. Effects of melatonin on vertebrate circadian systems. Trends Neurosci 1990;13:457-64.

Castellani A. The etiology of sleeping sickness (preliminary note). Lancet 1903a;i:723-5.

Castellani A. On the discovery of a species of trypanosome in the cerebrospinal fluid of cases of sleeping sickness. Lancet 1903b;i:1735-6.

Castellani A. Some observations on the morphology of the *Trypanosoma* found in sleeping sickness. Br Med J 1903c;i:1431-2.

Castellani A. Presence of *Trypanosoma* in sleeping sickness. In: Reports of the sleeping sickness commission. N° 1. London: Harrison and Sons; August 1903d: 3-10. Reprinted by Elibron Classics series, Adamant Media Corporation, 2005.

Castellani A. The history of the association of *Trypanosoma* with sleeping sickness. Br Med J 1903e;ii:1565.

Cattand P, Miézan T, De Raadt P. Human African trypanosomiasis: use of double centrifugation of cerebrospinal fluid to detect trypanosomes. Bull WHO 1988;66:83-6.

Cattand P. Diagnostic procedures. In: Gilles HM, ed. Protozoal Diseases. London: Arnold; 1999:272-7 (P. de Raadt, communication personnelle à A. Buguet : Chapitre rédigé par Cattand P).

Cespuglio R, Burlet S, Marinesco S, Robert F, Jouvet M. Brain voltammetric detection of nitric oxide in the rat. C R Acad Sci Paris 1996;319:191-200.

Chappuis F, Pittet A, Bovier PA, Adams K, Godineau V, Hwang SY, Magnus E, Büscher P. 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 2002;7:942-8.

Chassaniol B. Contribution à la pathologie de la race nègre. Arch Méd Nav 1865;3:505-20.

Checkley AM, Pepin J, Gibson WC, Taylor MN, Jäger HR, Mabey DC. Human African trypanosomiasis: diagnosis, relapse and survival after severe melarsoprol-induced encephalopathy. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2007;101:523-6.

Chevrier C, Canini F, Darsaud A, Cespuglio R, Buguet A, Bourdon L. Clinical assessment of the entry into neurological state in rat experimental African trypanosomiasis. Acta Trop 2005;95:33-9.

Christy C. The distribution of sleeping sickness on the Victoria Nyanza and its connexion with filariasis and trypanosomiasis. Br Med J 1903;ii:648-50.

Claes F, Deborggraeve S, Verloo D, Mertens P, Crowther JR, Leclipteux T, Büscher P. Validation of a PCR-Oligochromatography test for *Trypanozoon* parasites in a multicenter collaborative trial. J Clin Microbiol online, downloaded from jcm.asm.org. 2007.

Clapier P. Constatation de *Trypanosoma gambiense* en grande abondance dans le liquide d'hydrocèle. Bull Soc Path Ex 1921;14:378-80.

Clarke R. Observations on the disease lethargus : with cases and pathology. Gaz Med London 1840:970-6.

Claustrat B, Buguet A, Geoffriau M, Montmayeur A, Bogui P, Muanga G, Stanghellini A, Dumas M. Le rythme nycthéméral de la mélatonine (MLT) est conservé dans la trypanosomose humaine africaine. Bull Soc Pathol Ex 1994;87:380-2.

Claustrat B, Buguet A, Geoffriau M, Bogui P, Mouanga G, Stanghellini A, Dumas M. Plasma melatonin rhythm is maintained in human African trypanosomiasis. Neuroendocrinology 1998;68: 64-70.

Collomb H. Pathologie exotique. Neurologie. IV. Lèpre ; trypanosomiase. Cours de l'E.A.C.I.R.S.S.T.C. (Ecole du service de santé des troupes coloniales). Marseille: Le Pharo; 1958:1-64.

Collomb H, Bartoli D. Le cœur dans la trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma gambiense.* Bull Soc Path Ex 1967;60:142-56.

Collomb A, Demarchi J, Miletto G. Trypanosomiase humaine africaine. In: Traité de médecine. Paris: Masson; 1958:268-350.

Collomb H, Virieu R, Dumas M, Ayats H. Les formes pseudo-tumorales et hémiplégiques de la trypanosomose humaine africaine. Bull Soc Med Afr Noire 1968;13:734-8.

Corre A. Recherches sur la maladie du sommeil. Contribution à l'étude de la scrofule dans la race noire. Arch Med Nav 1877a;27:292-312.

Corre A. Recherches sur la maladie du sommeil. Contribution à l'étude de la scrofule dans la race noire. Arch Med Nav 1877b;27:330-56.

Corre A. Traité clinique des maladies des pays chauds. Paris: Octave Doin, Editeur; 1887.

Courtioux B, Bisser S, MBelesso P, Ngoungou E, Girard M, Nangouma A, Josenando T, Jauberteau-Marchan MO, Bouteille B. Dot enzyme-linked immunosorbent assay for more reliable staging of patients with human African trypanosomiasis. J Clin Microbiol 2005;43:4789-95.

Cox FEG. History of sleeping sickness (African trypanosomiasis). Infect Dis Clin N Am 2004;18:231-45.

Cramet R. La maladie du sommeil chez l'enfant et ses séquelles à distance. Méd Trop 1982;42:27-31.

Dangaix C. Sur l'hypnosie ou maladie du sommeil. Moniteur Sci Méd Pharma, 2e série 1861;3:787-9.

Darré H. Les symptômes cutanés de la trypanosomiase humaine. Etude clinique et anatomique des exanthèmes trypanosomiasiques. Ann Dermatol Syphiligr 1908;9:673-91.

Darsaud A, Bourdon L, Chevrier C, Keita M, Bouteille B, Queyroy A, Canini F, Cespuglio R, Dumas M, Buguet A. Clinical follow-up in the rat experimental model of African trypanosomiasis. Exp Med Biol 2003;228:1355-62.

Darsaud A, Bourdon L, Mercier P, Mercier S, Chapotot F, Bouteille B, Cespuglio R, Buguet A. Twenty-four-hour disruption of the sleep-wake cycle and sleep-onset REM-like episodes in a rat model of African trypanosomiasis. Sleep 2004;27:42-6.

Daulouède S, Bouteille B, Moynet D, De Baetselier P, Courtois P, Lemesre JL, Buguet A, Cespuglio R, Vincendeau P. Human macrophage tumor necrosis factor (TNF)-α production induced by *Trypanosoma brucei gambiense* and the role of TNF-α in parasite control. J Infect Dis 2001;183:988-91.

Dawson D, Encel N. Melatonin and sleep in humans. J Pineal Res 1993;15:1-12.

Dechambre A. Note sur la maladie du sommeil d'après le travail de Dangaix. Gaz Hebd Med Chir 1861;8:572-4.

de Gee AL, McCann PP, Mansfield JM. Role of antibody in the elimination of trypanosomes after DL-alpha-difluoromethylornithine chemotherapy. J Parasitol 1983;69:818-22.

de Greef C, Hamers R. The serum-resistance-associated (*SRA*) gene of *Trypanosoma brucei rhodesiense* encodes a variant surface glycoprotein-like protein. Mol Biochem Parasitol 1994;68:277-84.

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 1989;36:169-76.

de Greef C, Chimfwembe E, Kihang'a Wabacha J, Baiyana Songa E, Hamers R. Only the serum-resistant bloodstream forms of *Trypanosoma brucei rhodesiense* express the serum resistance associated (SRA) protein. Ann Soc Belg Méd Trop 1992;72(Suppl. 1):13-21.

Del Pino F. Apport de la technique PCR dans le diagnostic et l'identification des trypanosomes. Mémoire de Mastère. Montpellier: Institut recherche et développement; 1999.

de Marqueissac H. Fonctionnement des équipes de prospection et de traitement du secteur de prophylaxie de la trypanosomiase au Togo. Ann Méd Pharm Coloniales 1932;30:478-87.

de Raadt P. Diagnosis. In: Molyneux DH, de Raadt P, Seed JR. Recent advances in tropical medicine: Gilles; 1984:40-1 (chapitre rédigé par P. de Raadt, communication personnelle à A. Buguet).

de Raadt P. The history of sleeping sickness. In: Protozoal Diseases. Gilles HM (Ed.).Arnold: London, 1999:250-9 (chapitre rédigé par P. de Raadt, communication personnelle à A. Buguet).

de Raadt P. The history of sleeping sickness. Fourth International Course on African Trypanosomoses. Tunis, 11-28 October 2005 (communication personnelle).

Dobson R. Sleeping sickness re-emerges in Africa after years of civil war. Br Med J 2001;322:1382.

Doua F, Miézan TW, Sanon Singaro JR, Boa FY, Baltz T. The efficacy of pentamidine in the treatment of early-stage *Trypanosoma brucei gambiense* trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg 1996;55:586-8.

Dryepondt M. Léthargie d'Afrique. Rev Neurol 1901;9:33.

Dubois A. Notes sur l'auto-agglutination des hématies dans la trypanosomiase humaine. Bull Soc Path Ex 1912;5:686-93.

Dukes P, Rickman LR, Killick-Kendrick R. A field comparison of seven diagnostic techniques for human trypanosomiasis in the Luangwa valley, Zambia. Tropenmed Parasitol 1984;35:141-7.

Dukes P, Gibson WC, Gashumba JK, Hudson KM, Bromidge TJ, Kaukus A, Asonganyi T, Magnus E. Absence of the LiTat 1.3 (CATT antigen) gene in *Trypanosoma brucei gambiense* stocks from Cameroon. Acta Trop 1992;51:123-34.

Dumas M, Girard PL. Sleeping sickness. Trends Neurosci 1979;2:256-8.

Dumas M., Bisser S. Clinical aspects of human African trypanosomiasis. In: Dumas M, Bouteille B, Buguet A (Eds). Progress in human African trypanosomiasis, sleeping sickness. Paris: Springer Verlag; 1999:215-33.

Dumas M, Bouteille B, Buguet A. Progress in human African trypanosomiasis, sleeping sickness. Paris: Springer Verlag; 1999.

Dutertre J. Contribution à l'étude de l'encéphalite de la maladie du sommeil (intérêt de la pneumo-encéphalographie dans les corrélations bio-anatomo-cliniques. Thèse 1955 (http://perso.wanadoo.fr/jdtr/these55.htm).

Dutton JE. Note on *trypanosoma* occurring in the blood of man. Br Med J 1902;ii:881-4.

Dutton JE, Todd JH. Researches on trypanosomiasis in West Africa. Br Med J 1903:ii:648-50.

Dutton JE, Todd J. First report of the trypanosomiasis expedition to Senegambia of the Liverpool School of Tropical Medicine and Medical Parasitology. Liverpool: The University Press of Liverpool; 1904.

Dutton JE, Todd J. Liverpool School of Tropical Medicine. Memoir XVIII, March 1906. (cité par Martin et Leboeuf, 1908c).

Dutton JE, Todd J, Christy C. Reports of the trypanosomiasis expedition to the Congo 1903-1904 of the Liverpool School of Tropical Medicine and Medical Parasitology. Trypanosomiasis (sleeping sickness). Liverpool School of Tropical Medicine – Memoir XIII. Liverpool: The University Press of Liverpool; 1904.

Duvallet G, Saliou P. Organisation du dépîstage de la trypanosomiase humaine en Afrique de l'ouest. Méd Trop 1978;38:533-6.

Duvallet G, Stanghellini A, Saccharin C, Vivant JF. Le foyer de trypanosomiase humaine de Vavoua (République de Côte d'Ivoire). Enquête clinique, parasitologique et séro-immunologique. Méd Trop 1979;39:517-25.

Edeghere H, Olatunde DS, Olise PO, Agbi HH, Ekejindu GOC. Field evaluation of cellognost indirect haemagglutination test in the diagnosis of human trypanosomiasis (sleeping sickness) in Kura local government area of Kano State, Nigeria. Acta Trop 1985;42:189-94.

Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay, Elisa. 3. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. J Immunol 1972;109:129-35.

Enyaru JCK, Allingham R, Bromidge T, Kanmogne GD, Carasco JF. The isolation and genetic heterogeneity of *Trypanosoma brucei gambiense* from north-west Uganda. Acta Trop 1993;54:31-9.

Enyaru JCK, Matovu E, Akol M, Sebikali C, Kyambadde J, Schmidt C, Brun R, Kaminsky R, Ogwal LM, Kansiime F. Parasitological detection of *Trypanosoma brucei gambiense* in serologically negative sleeping-sickness suspects from north-western Uganda. Ann Trop Med Parasitol 1998;92:845-50.

Enyaru JCK, Odiit M, Winyi-Kaboyo R, Sebikali CG, Matovu E, Okitoi D, Olaho-Mukani W. Evidence for the occurrence of *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness outside the traditional focus in south-eastern Uganda. Ann Trop Med Parasitol 1999;93:817-22.

Evans G. On a horse disease in India known as “Surra” probably due to a haematozoon. Vet J Ann Comp Pathol 1881;13:1-10, 82-8, 180-200, 326-33.

Fantham HB, Thomson JG. Enumerative studies on *Trypanosoma gambiense* and *T. rhodesiense* in rats, guinea-pigs, and rabbits: periodic variations disclosed (preliminary note). Roy Soc Proc B 1910;83:206-11.

Felu C, Pasture J, Pays E, Pérez-Morga D. Diagnostic potential of a conserved genomic rearrangement in the *Trypanosoma brucei gambiense*-specific *TGSGP* locus. Am J Trop Med Hyg 2007;76:922-9.

Fèvre EM, Coleman PG, Welburn SC, Maudlin I. Reanalyzing the 1900-1920 sleeping sickness epidemic in Uganda. Emerg Infect Dis 2004;10:567-73.

Fèvre EM, Picozzi K, Jannin J, Welburn S, Maudlin I. Human African trypanosomiasis: epidemiology and control. Adv Parasitol 2006;61:167-221.

Follenius M, Brandenberger G, Bandesapt JJ, Libert JP, Ehrhart J. Nocturnal cortisol release in relation to sleep structure. Sleep 1991;15:21-7.

Forbes C. The "sleeping sickness of West Africa". Lancet 1894;i:1185-6.

Forde RM. Some clinical notes on a European patient in whose blood a *Trypanosoma* was observed. J Trop Med 1902;5:261-3.

Forde RM, Dutton JE. Thompson-Yates Laboratory Reports, 4 (2), May 1902.

Frézil JL. Application du xénodiagnostic dans le dépistage de la trypanosomiase à *T. gambiense* chez des sujets immunologiquement suspects. Bull Soc Path Ex 1971;64:871-8.

Frézil JL, Carrié J, Rio F. Application et valeur de la technique d'immunofluorescence indirecte au dépistage et à la surveillance épidémiologique de la trypanosomiase à *Trypanosoma gambiense*. Cah. ORSTOM Sér Entomol Méd Parasitol 1974;12:111-26.

Frézil JL, Coulm J, Alary JC. L'immunofluorescence indirecte et la stratégie de lutte contre la trypanosomiase humaine en Afrique Centrale. Méd Trop 1977;37:285-9.

Frézil JL, Coulm J, Alary JC. L'immunofluorescence indirecte dans la surveillance thérapeutique des trypanosomés (note préliminaire). Bull Soc Path Ex 1978;71:440-5.

Frézil JL. De la technique du Quantitative Buffy Coat selon les données de la littérature. Bull Liais Doc -OCEAC 1995;28:194-6.

Friedheim EAH. Mel B in the treatment of human trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg 1949;29:173-80.

Fuller C. Louis Trichardt's trek across the Drakensberg. Leo Fouché Vol. 13 (Ed.). Cape Town: Van Riebeeck Society; 1932.

Gallais P. Contribution à l'étude des états méningés en Afrique Occidentale Française. Méd Trop 1942;10:769-850.

Gallais P. Etude électroencéphalographique de la trypanosomiase humaine. Rev Neurol 1951;85:95-104.

Gallais P. Etudes sur la trypanosomiase humaine africaine. Méd Trop 1953;Numéro spécial de décembre:799-858.

Gallais P, Collomb A. Approche thérapeutique de la schizophrénie et de certaines psychoses graves par la trypanosomiase d'inoculation. Presse Méd 1957;65:155-6.

Gallais P, Cros R, Pruvost A, Planques L, Cardaire G, Miletto G, Levy-Cavalleri G, Bert J, Fons R. Etude clinique, biologique, électroencéphalographique, parasitologique, de la trypanosomiase d'inoculation. Méd Trop 1953;13:807-43.

Gallais P, Collomb H, Miletto G, Dutertre J. L'apport de la pneumo-encéphalographie dans l'interprétation et le classement de l'encéphalite de la trypanosomiase humaine africaine. Intérêt doctrinal et thérapeutique. Méd Trop 1956;16:5-46.

Garcia A, Jamonneau V, Magnus E, Laveissière C, Lejon V, N'Guessan P, N'Dri L, Van Meirvenne N, Büscher P. Follow-up of Card-Agglutination Trypanosomiasis Test (CATT) positive but apparently aparasitemic individuals in Côte d'Ivoire: evidence for a complex and heterogeneous population. Trop Med Int Health 2000;5:786-93.

Gati R, Pétieu R, Wamba B, Buguet A. Human sleep in dry tropical Africa. In: Horne J (Ed.). Sleep '90. Pontenagel Press: Bochum; 1990:39-41.

Gautier-Sauvigné S, Colas D, Parmantier P, Clement P, Gharib A, Sarda N, Cespuglio R. Nitrix oxide and sleep. Sleep Med Rev 2005; 9:101-13.

Gibson W, Backhouse T, Griffiths A. The human serum resistance associated gene is ubiquitous and conserved in *Trypanosoma brucei rhodesiense* throughout East Africa. Infect Genetics Evolution 2002;1:207-14.

Ginoux PY, Frézil JL. Recherches sur la latence clinique et la trypanotolérance humaine dan sle foyer du Couloir du fleuve Congo. Cah ORSTOM sér Ent Méd Parasit 1981;19:33-40.

Ginoux PY, Frézil JL, Alary JC. La trypanosomiase humaine au moment du dépistage en République populaire du Congo. Distribution des signes cliniques. Méd Trop 1982;42:281-7.

Giordano C, Clerc M, Doutriaux C, Doucet J, Nozais JP, Bureau JP, Piquemal M. Le diagnostic neurologique au cours des différentes phases de la trypanosomiase humaine africaine. Ann Soc Belg Méd Trop 1977;57:213-25.

Giordano C, Dumas M, Kouassi B, Boa F, Piquemal M. Les aspects électroencéphalographiques de la maladie du sommeil (trypanosomiase humaine africaine). Read before the XIth International Congress of Tropical Medicine and Malaria, Calgary, 16-22 September 1984.

Girard M, Bisser S, Büscher P, Bouteille B, Preud'homme JL, Jauberteau MO. Cross-reactivity of anti-galactocerebroside autoantibodies with a *Trypanosoma brucei* proteolipidic epitope. Clin Exp Immunol 2000;119:516-22.

Gobert AP, Daulouède S, Lepoivre M, Boucher JL, Bouteille B, Buguet A, Cespuglio R, Veyret B, Vincendeau P. L-arginine availability modulates local nitric oxide production and parasite killing in experimental trypanosomiasis. Infect Immun 2000;68:4653-7.

Goichot B, Buguet A, Bogui P, Montmayeur A, Bourdon L, Dumas M, Brandenberger G. 24-hour profiles and sleep-related variations of cortisol, plasma renin activity and thyrotropin in healthy African melanoids. Eur J Appl Physiol 1995;70:220-5.

Golstein J, Van Cauter E, Desir D, Noël P, Spire JP, Refetoff S, Copinschi G. Effects of jet lag on hormonal patterns. IV. Time shifts increase growth hormone release. J Clin Endocrinol Metab 1983;56:433-40.

Grassi-Zucconi G, Harris JA, Mohammed AH, Ambrosini MV, Kristensson K, Bentivoglio M. Sleep fragmentation, and changes in locomotor activity and body temperature in trypanosome-infected rats. Brain Res Bull 1995;37:123-9.

Grassi-Zucconi G, Semprevivo M, Mocaer E, Kristensson K, Bentivoglio M. Melatonin and its new agonist S-20098 restore synchonized sleep fragmented by experimental trypanosome infection in the rat. Brain Res Bull 1996;39:63-8.

Greenwood BM, Whittle HC, Oduloju KO, Dourmashkin RR. Lymphocytic infiltration of the brain in sleeping sickness. Br Med J. 1976;ii:1291-2.

Greig EDW, Gray ACH. Note on lymphatic glands in sleeping sickness. Br Med J 1904a;i:1252.

Greig EDW, Gray ACH. Notes on lymphatic glands in sleeping sickness. Lancet 1904b;i:1570.

Griffon du Bellay. Rapport médical sur le service de l'hôpital du Gabon. Arch Méd Nav 1864;1:400-1.

Gruby D. Recherches et observations sur une nouvelle espèce d'hématozoaire, *Trypanosoma sanguinis*. C. R. Acad. Sci. Paris 1843;17:1134-6.

Guérin PMA. De la maladie du sommeil. Thèse de doctorat en médecine. Paris : A. Parent, Imprimeur de la Faculté de médecine; 1869.

Guerra F. Aleixo de Abreu (1568-1630), author of the earliest book on tropical medicine describing amoebiasis, malaria, typhoid fever, scurvy, yellow fever, dracontiasis, trichuriasis and tungiasis in 1623. J Trop Med 1968;71: 55−69.

Guibert J. La ponction de la moelle osseuse. Excellente méthode pour la mise en évidence chez l'homme de *Trypanosoma gambiense* - Nécessité de la coloration du suc ganglionnaire. Ann Méd Pharm Coloniales 1938;36:138-48.

Guibert J, Bosq H. Présence constante chez les trypanosomés non traités ou non guéris de *Trypanosoma gambiense* dans la moelle osseuse. Résultats de 38 nouvelles ponctions du sternum. Ann Méd Pharm Coloniales 1938;36:525-32.

Guillet R. A propos d'un suc ganglionnaire particulièrement riche en *Trypanosoma gambiense*. Bull Soc Ouest-Africain 1924;10:116-8.

Habershon SH. The case of trypanosomiasis and sleeping sickness. Br Med J 1903;2:1565-6.

Halberg F. Physiologic 24-hour periodicity : general and procedural considerations with reference to the adrenal cycle. Z Vitamin Hormon Fermentforsch 1959;10:225-96.

Hall N, Berriman M, Lennard NJ, harris BR, Hertz-Fowler C, Bart-Delabesse EN, Gerrard CS, Atkin RJ, Barron AJ, Bowman S, Bray-Allen SP, Bringaud F, Clark LN, Corton CH, Davies R. The DNA sequence of chromosome I of an African trypanosome: gene content, chromosome organisation, recombination and polymorphism. Nucleic Acids Res 2003;31:4864-73.

Hamon JF, Camara P. Information processing disturbances are similar in sleeping sickness patients to those of sleep deprived subjects: an auditory event-related potential study. Homeostasis 1993;34:154-60.

Hamon JF, Camara P, Gauthier P, Arnaud C, Gottesmann C. Waking electroencephalograms in the blood-lymph and encephalitic stages of Gambian trypanosomiasis. Ann Trop Med Parasitol 1993;87:149-55.

Harris E, Detmer J, Dungan J, Doua F, White T, Kolberg JA, Urdea MS, Agabian N. Detection of *Trypanosoma brucei* spp. in human blood by a nonradioactive branched DNA-based technique. J Clin Microbiol 1996;34:2401-7.

Hasker E, Mitashi P, Baelmans R, Lutumba P, Jacquet D, Lejon V, Kande V, Declercq J, Van der Veken W, Boelaert M. A new format of the CATT test for the detection of human African trypanosomiasis, designed for use in peripheral health facilities. Trop Med Int Health 2010;15:263-7.

Henry MC, Kageruka P, Ruppol JF, Bruneel H, Claes Y. Evaluation du diagnostic sur le terrain de la trypanosomiase à *Trypanosoma brucei gambiense*. Ann Soc Belg Méd Trop 1981;61:79-92.

Higuchi T, Takahashi Y, Takahashi K, Niimi Y, Miyasita A. Twenty-four-hour secretory patterns of growth hormone, prolactin, and cortisol in narcolepsy. J Clin Endocrinol Metab 1979;49:197-204.

Hodges ADP. Sleeping sickness: a résumé. Lancet 1904;ii:290-2.

Holl RW, Hartman ML, Veldhuis JD, Taylor WM, Thormer MO. Thirty-second sampling of plasma growth hormone in man: correlation with sleep stages. J Clin Endocrinol Metab 1991;72:854-61.

Hublart M, Lagouche L, Racadot A, Boersma A, Degand P, Noireau F, Lemesre JL, Toudic A. Fonction endocrine et trypanosomiase africaine. Bilan de 79 cas. Bull Soc Path Ex 1988;81:468-76.

Hunter CA, Jennings FW, Tierney JF, Murray M, Kennedy PGE. Correlation of autoantibody titres with central nervous system pathology in experimental African trypanosomiasis. J Neuroimmunol 1992;41:143-8.

Hutchinson OC, Webb H, Picozzi K, Welburn S, Carrington M. Candidate protein selection for diagnostic markers of African trypanosomiasis. Trends Parasitol 2004;20:519-23.

Ibn Khaldun. Histoire des Berbères des dynasties musulmanes de l'Afrique septentrionale (traduit de l'arabe en français par le baron de Slane), t. 2. Librairie orientaliste Paul Gueuthner : Paris, 1927, p. 115.

Imbert P, Mérouze F, Rigalleau V, Morillon M, Desfontaines M, Jeandel P, Gras C, Molinier S, Touze JE. La trypanosomiase humaine africaine à *Trypanosoma rhodesiense* : étiologie de fièvre au retour d'Afrique. Bull Epidémiol Hebdo 1994;18:79.

Inojosa WO, Augusto I, Bisoffi Z, Josenando T, Abel PM, Stich A, Whitty CJM. Diagnosing human African trypanosomiasis in Angola using a card agglutination test: observational study of active and passive case finding strategies. Br Med J 2006;332:1479-83.

Isharaza WK. Variant-specific trypanolytic antibodies in sera from patients infected with *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Bull WHO 1990;68:33-7.

Jamonneau V, Truc P, Garcia A, Magnus E, Büscher P. Preliminary evaluation of LATEX/*T. b. gambiense* and alternative versions of CATT/*T. b. gambiense* for the serodiagnosis of human African trypanosomiasis of a population at risk in Côte d'Ivoire: considerations for mass-screening. Acta Trop 2000;76:175-83.

Jamonneau V, Solano P, Cuny G. Utilisation de la biologie moléculaire dans le diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine. Méd Trop 2001;61:347-54.

Jamonneau V, Solano P, Garcia A, Lejon V, Djé N, Miézan T, N'Guessan P, Cuny G, Büscher P. Stage determination and therapeutic decision in human African trypanosomiasis: value of polymerase chain reaction and immunoglobulin M quantification on the cerebrospinal fluid of sleeping sickness patients in Côte d'Ivoire. Trop Med Int Health 2003;8:589-94.

Jannin JG. Sleeping sickness, a growing problem? Br Med J 2005;331:1242.

Jannin J, Cattand P. Treatment and control of human African trypanosomiasis. Curr Opin Inf Dis 2004;17:565-70.

Jannin J, Moulia-Pelat JP, Chanfreau B, Penchenier L, Louis JP, Nzaba P, de La Baume FE, Eozenou P, Cattand P. Trypanosomiase humaine africaine : étude d'un score de présomption de diagnostic au Congo. Bull OMS 1993;71:215-22.

Jannin J, Simarro PP, Louis FJ. Le concept de maladie négligée. Med Trop 2003;63:219-21.

Janssen P, van Bogaert L. La forme cérébelleuse extra-pyramidale de la trypanosomiase. J Trop Med Hyg 1956;5:665-75.

Jha TK, Sharma VK. Pentamidine-induced diabetes mellitus. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1984;78:252-3.

Jouvet M, Michel F, Courjon J. Sur un stade d'activité électrique cérébrale rapide au cours du sommeil physiologique. C R Soc Biol 1959;152:1024-8.

Joyeux Ch, Sicé A. Maladie du sommeil. In : Précis de médecine coloniale. Seconde édition. Masson et Cie : Paris, 1937 :984-1031.

Kaba D, Dje NN, Courtin F, Oke E, Koffi M, Garcia A, Jamonneau V, Solano P. L'impact de la guerre sur l'évolution de la THA dans le centre-ouest de la Côte d'Ivoire. Trop Mezd Int Health 2006;11:136-143.

Kabiri M, Franco JR, Simarro PP, Ruiz JA, Sarsa M, Steverding D. Detection of *Trypanosoma brucei gambiense* in sleeping sickness suspects by PCR amplification of expression-site-associated genes 6 and 7. Trop Med Int Health 1999;4:658-61.

Kanmogne GD, Asonganyi T, Gibson WC. Detection of *Trypanosoma brucei gambiense*, in serologically positive but aparasitaemic sleeping-sickness suspects in Cameroon, by PCR. Ann Trop Med Parasitol 1996;90:475-83.

Kashiwasaki Y, Kanitpun R, Suteeraparp P, Boonchit S. A preliminary comparative study of a dipstick colloidal dye immunoassay and two antigen-detection ELISAs for diagnosis of *Trypanosoma evansi* infection in cattle. Vet Res Com 2000;24:533-44.

Kazyumba GL. Dépistage de la maladie du sommeil. Expérience du Zaïre. Ann Soc Belge Méd Trop 1989;69:207-8.

Kazyumba G, Berney M, Brighouse G, Cruchaud A, Lambert PH. Expression of B cell repertoire and autoantibodies in human African trypanosomiasis. Clin. Exp. Immunol. 1986;65:10-8.

Kegels G, Criel B, van Lerberghe W, Mentens H, Magnus E, van Balen H. Screening for *Trypanosoma brucei gambiense* antibodies with the indirect fluorescent

antibody test (IFAT). Effect of age and previous treatment. Ann Soc Belge Méd Trop 1992;72:271-81.

Kérandel J. Un cas de trypanosomiase chez un médecin (auto-observation). Bull Soc Path Ex 1910;3:642-62.

Kermorgant A. Maladies endémiques, épidémiques et contagieuses qui ont régné dans les colonies françaises en 1903. Ann. Hyg. Méd. Col. 1905;8:424-53.

Kermorgant A. Maladies endémiques, épidémiques et contagieuses qui ont régné dans les colonies françaises en 1904. Ann. Hyg. Méd. Col. 1906;8:349-77.

Kermorgant A. Maladies endémiques, épidémiques et contagieuses qui ont régné dans les colonies françaises en 1906. Ann Hyg Méd Col 1908;11:334-76.

Kioy D, Mattock N. Control of sleeping sickness - time to integrate approaches. Lancet 2005;366:695-6.

Kjeldsberg CR, Knight JA. Cerebrospinal fluid. In: Body fluids. Johnson KD (Ed.). Chicago, Indianapolis, Washington: American society of clinical pathologists; 1993:65-157.

Kleine FK. Weitere Beobachtung über Tsetse-fliege und Trypanosomen. Deutsche Med Wochenschr 1909;35:1956-8.

Kobayakawa T, Louis J, Shozo I, Lambert PH. Autoimmune response to DNA, red cells, and thymocyte antigens in association with polyclonal antibody synthesis during experimental African trypanosomiasis. J Immunol 1979;122:296-301.

Koch R. Bericht über die Tätigkeit der deutschen Expedition zur Erforschung der Schlafkrankheit bis zum 25, November 1906. Deutsche Med Wochenschr 1907a;33:50-1.

Koch R. Schlussbericht über die Tätigkeit der deutschen Expedition zur Erforschung der Schlafkrankheit. Deutsche Med Wochenschr 1907b;33:1889-95.

Koch R, Beck W, Kleine FK. Bericht der Kommission zur Erforschung der Schlafkrankheit. Berlin: Springer; 1909.

Koffi M, Solano P, Denizot M, Courtin D, Garcia A, Lejon V, Büscher P, Cuny G, Jamonneau V. Aparasitemic serological suspects in *Trypanosoma brucei*

gambiense human African trypanosomiasis: a potential human reservoir of parasites? Acta Trop 2006;98:183-8.

Koko J, Dufillot D, Gahouma D, Amblard J, Kani F. Trypanosome humaine africaine chez l'enfant. Expérience d'un service de pédiatrie à Libreville, Gabon. Bull Soc Path Ex 1997;90:14-8.

Komba E, Odiit M, Mbulamberi DB, Chimfwembe EC, Nantulya VM. Multicentre evaluation of an antigen-detection ELISA for the diagnosis of *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness. Bull WHO 1992;70:57-61.

Kouchner G, Bouree P, Lowenthal M. Aspects de l'atteinte hépatique dans la trypanosomiase à *Trypanosoma rhodesiense*. Bull Soc Path Ex 1979;2:131-5.

Krause DN, Dubocovich ML. Regulatory sites in the melatonin system of mammals. Trends Neurosci 1990;13:464-70.

Kuboki N, Inoue N, Sakurai T, Di Cello F, Grab DJ, Suzuki H, Sugimoto C, Igarashi I. Loop-mediated isothermal amplification for detection of African trypanosomes. J Clin Microbiol 2003;41:5517-24.

Kuborn M. La maladie du sommeil. Gaz Hebd Méd Chir 1901:612.

Kuborn M. Courte note à propos de la maladie du sommeil. Bull Acad Roy Méd Belg 1902:103-6.

Kyambadde JW, Enyaru JCK, Matovu E, Odiit M, Carasco JF. Detection of trypanosomes in suspected sleeping sickness patients in Uganda using the polymerase chain reaction. Bull WHO 2000;78:119-23.

Lanham SM, Godfrey DG. Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE cellulose. Exp Parasitol 1970;28:521-34.

Lapeyssonnie. Moi, Jamot. Presses de l'INAM : Plaisir, 1987.

Lapeyssonnie L. Deuxième note concernant un cas exceptionnel de trypanosomiase. Parasitémie observée depuis 21 ans sans signes cliniques appréciables chez une malade traitée inefficacement pendant les 10 premières années. Bull Soc Path Ex 1960;53:28-32.

Lapeyssonnie L. Cours de l'Ecole d'application des troupes de marine et institut de médecine tropicale du service de santé des armées. Marseille: Le Pharo; 1970 (Buguet, communication personnelle).

Laquieze, Berny. Note sur onze observations de trypanosomés atteints de frigidité génitale. Ann Méd Pharm Coloniales 1933a;31:96-100.

Laquieze, Berny. Note sur l'arrêt des menstruations chez les trypanosomées. Ann Méd Pharm Coloniales 1933b;31:100-1.

Lasègue C, Duplay S. Maladie du sommeil. In: Duplay LE (Ed.). Archives générales de médecine. Paris: P Asselin, successeur de Béchet jeune et Labé; 1869:605-7.

Laveran A. Des trypanosomes parasites du sang. Arch. Méd. Exp. Anat. Path. 1892;4:257-69.

Laveran A. Action du sérum humain sur quelques trypanosomes pathogènes ; action de l'acide arsénieux sur *Tr. gambiense*. C R Acad Sci Paris 1904;188:450-3.

Laveran A. Sur trois virus de trypanosomiase humaine de provenances différentes. C R Acad Sci 1906:1065-9.

Laveran A, Mesnil F. Sur le mode de multiplication du trypanosome du nagana. C R Soc Biol 1901:326-9.

Laveran A, Mesnil F. Recherches morphologiques et expérimentales sur le trypanosome du nagana ou maladie de la mouche tsétsé. Ann Inst Pasteur 1902;16:1-55.

Laveran A, Mesnil F. Trypanosomes et trypanosomiases. Masson et Cie, Editeurs: Paris, 1904.

Laveran A, Thiroux A. Sur le rôle de la rate dans les trypanosomiases. Ann Inst Pasteur 1907;21:593-612.

Laveran A, Mesnil F. Trypanosomiase humaine ou maladie du sommeil. In : Trypanosomes et trypanosomiases. Paris: Masson et Cie, Editeurs; 1912:673-795.

Le Bras M, Clerc M, Loubière R, Baudin L, Tonnel J, Bertrand E. Aspects de la symptomatologie hépatique au cours de la trypanosomiase humaine africaine. Méd Afr Noire 1973; 20:343-53.

Le Dantec. Accidents occasionnés par les animaux. In : Précis de pathologie exotique. Maladies des pays chauds et des pays froids. Paris: Octave Doin, Editeur; 1929: 849-51.

Leder K, Weller PF. Epidemiology and clinical manifestations of African trypanosomiasis. UpToDate® www.uptodate.com, 2007a:Pp. 1-8. Accessed 10/11/2007.

Leder K, Weller PF. Diagnosis; treatment and prevention of African trypanosomiasis. and clinical manifestations of African trypanosomiasis. UpToDate® www.uptodate.com, 2007b:Pp. 1-11. Accessed 10/11/2007.

Leeflang P, Blotkamp C, Godfrey DG, Kilgour V. A convenient hypotonic lysis method for concentrating trypanosomes from infected blood. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1974;68:412.

Lefrou G, Ouzilleau F. Etude du liquide céphalo-rachidien considéré dans ses rapports avec l'évolution et le traitement de la maladie du sommeil. Ann Inst Pasteur 1922;36:834-50.

Lejon V, Büscher P. Cerebrospinal fluid in human African trypanosomiasis: a key to diagnosis, therapeutic decision and post-treatment follow-up. Trop Med Int Health 2005;10:395-403.

Lejon V, Büscher P, Magnus E, Moons A, Wouters I, Van Meirvenne N. A semi-quantitative ELISA for detection of *Trypanosoma brucei gambiense* specific antibodies in serum and cerebrospinal fluid of sleeping sickness patients. Acta Trop 1998a;69:151-64.

Lejon V, Büscher P, Sema H, Magnus E, Van Meirvenne N. Human African trypanosomiasis: a latex agglutination field test for quantifying IgM in cerebrospinal fluid. Bull WHO 1998b;76:553-8.

Lejon V, Legros D, Richer M, Ruiz JA, Jamonneau V, Truc P, Doua F, Djé N, N'Siesi F, Bisser S, Magnus E, Wouters I, Konings J, Vervoort T, Sultan F, Büscher P. IgM quantification in the cerebrospinal fluid of sleeping sickness patients by latex card agglutination test. Trop Med Int Health 2002;7:685-92.

Lejon V, Kwete J, Büscher P. Towards saliva-based screening for sleeping sickness? Trop Med Int Health 2003a;8:585-8.

Lejon V, Legros D, Savignoni A, Etchegorry MG, Mbulamberi D, Büscher P. Neuro-inflammatory risk factors for treatment failure in "early second stage" sleeping sickness patients treated with pentamidine. J Neuroimmunol 2003b;144:132-8.

Lejon V, Reiber H, Legros D, Djé N, Magnus E, Wouters I, Sindic CJM, Büscher P. Intrathecal immune response pattern for improved diagnosis of central nervous system involvement in trypanosomiasis. J Infect Dis 2003c;187:1475-83.

Lejon V, Jamonneau V, Solano P, Atchade P, Mumba D, Nkoy N, Bébronne N, Kibonja T, Balharbi F, Wierckx A, Boelaert M, Büscher P. Detection of trypanosome-specific antibodies in saliva, towards non-invasive serological diagnosis of sleeping sickness. Trop Med Int Health 2006;11:620-7.

Lejon V, Ngoyi DM, Boelaert M, Büscher P. A CATT negative result after treatment for human African trypanosomiasis is no indication for cure. PLoS Negl Trop Dis 2010;4:e590.

Lemesre JL, Noireau F, Makoundou ML, Louembet MT, Frézil JL. Apport des techniques sérologiques dans l'analyse du liquide céphalorachidien de patients congolais atteints de maladie du sommeil. Bull Soc Path Ex 1988;81:506-10.

Lewis TR. Flagellated organisms in the blood of healthy rats. Quart J Micr Sci 1879;19:109-14.

Lewy AJ, Sack RL, Latham JM. Melatonin and the acute suppressant effect of light may help regulate circadian rhythms in humans. Adv Pineal Res 1991;5:185-93.

Lhermitte J. La maladie du sommeil et les narcolepsies. Bruxelles: Etablissements d'imprimerie L. Severeyns; 1910.

Liu M K, Cattand P, Gardiner I C, Pearson T W. Immunodiagnosis of sleeping sickness due to *Trypanosoma brucei gambiense* by detection of anti-procyclic antibodies and trypanosome antigens in patients' sera. Acta Trop 1989;46:257-66.

Livingstone D. Missionary Travels and Researches in South Africa: including a sketch of 16 years' residence in the interior of Africa. London: John Murray; 1857.

Livingstone D. Arsenic as a remedy for the tsetse bite. Br Med J 1858;i:360-1.

Lorand A. Sleep, sleepiness, and insomnia. Monthly Cyclopaedia Pract Med 1906;9:145.

Lucasse CHR. Fluorescent antibody test as applied to cerebrospinal fluid in human sleeping sickmess. Bull Soc Path Ex 1964;57:284-91.

Lumsden WR, Kimber CD, Evans DA, Doig SJ. *Trypanosoma brucei:* miniature anion-exchange centrifugation technique for detection of low parasitaemias: adaptation for field use. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1979;73:312-7.

Lumsden WHR, Kimber CD, Dukes P, Haller L, Stanghellini A, Duvallet G. Field diagnosis of sleeping sickness in the Ivory Coast. I. Comparison of the miniature anion-exchange/centrifugation technique with other protozoological methods. Trans R Soc Trop Med Hyg 1981;75:242-50

Lumsden WR, Kimber CD, Dukes P, Haller L, Stanghellini A, Duvallet G. Field diagnosis of sleeping sickness in the Ivory Coast. I. Comparison of the miniature anion-exchange/centrifugation technique with other protozooligical methods. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1984;75:242-50.

Lutumba P, Robays J, Miaka C, Kande V, Simarro PP, Shaw APM, Dujardin B, Boelaert M. Efficience de différentes stratégies de détection de la trypanosomiase humaine africaine à *T. b. gambiense*. Trop Med Int Health 2005;10:347-56.

Lutumba P, Robays J, Miaka C, Kande V, Mumba D, Büscher P, Dujardin B, Boelaert M. Validité, coût et faisabilité de la mAECT et CTC comme tests de confirmation dans la détection de la trypanosomiase humaine africaine. Trop Med Int Health 2006;11:470-8.

Lutumba P, Meheus F, Robays J, Miaka C, Kande V, Büscher P, Dujardin B, Boelaert M. Cost effectiveness of algorithms for confirmation test of human African trypanosomiasis. Emerging Infect Dis 2007a;13:1484-90.

Lutumba P, Makieya E, Shaw A, Maheus F, Boelaert M. Impact of human African trypanosomiasison a rural community in the Democratic Republic of Congo. 56th Congress of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, Philadelphia, 4-8 November 2007b.

Mabey D, Peeling R, Ustianowski A, Perkins MD. Diagnostics for the developing world. Nature Rev Microbiol 2004;2:231-40.

Mackenzie S. Negro lethargy. Lancet 1890;ii:1100-1.

Mackenzie S. "Negro lethargy" or "sleeping sickness" of Africa. Br Med J 1890;ii:1181-2.

Mackenzie AR, Boreham PLF. Autoimmunity in trypanosome infections. I. Tissue autoantibodies in *Trypanosoma* (*Trypanozoon*) *brucei* infections in the rabbit. Immunology 1974;26:1225-8.

MacLeod A, Tweedie A, MacLellan S, Taylor S, Hall N, Berriman M, El-Sayed NM, Hope M, Turner CM, Tait A. The genetic map and comparative analysis with the physical map of *Trypanosoma brucei*. Nucleic Acids Res 2005;33:6688-93. Erratum in: Nucleic Acids Res. 2006;34:764.

Magnus E, Van Meirvenne N, Vervoort T, Le Ray D, Wéry M. Use of freeze-dried trypanosomes in the indirect fluorescent antibody test for the serodiagnosis of sleeping sickness. Ann Soc Belge Méd Trop 1978a;58:103-09.

Magnus E, Vervoort T, Van Meirvenne N. A card agglutination test with stained trypanosomes (C.A.T.T.) for the serological diagnosis of *T. b. gambiense* trypanosomes. Ann Soc Belge Méd Trop 1978b;58:169-76.

Magnus P, Lejon V, Bayon D, Buyse D, Simarro P, Verloo D, Vervoort T, Pansaerts R, Büscher P, Van Meirvenne N. Evaluation of an EDTA version of CATT/*Trypanosoma brucei gambiense* for serological screening of human blood samples. Acta Trop 2002;81:7-12.

Malvy D, Djossou F, Weill Fx, Chapuis P, Longy-Boursier M, Le Bras M. Guess what! Human West African trypanosomiasis with chancre presentation. Eur J Dermatol 2000;10:561-562.

Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF.. Immunochemica1 quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry 1965;2:235-54.

Manson P. A clinical lecture on the sleeping sickness Delivered at Charing Cross Hospital, October 1898. Br Med J 1898;ii:1672-7.

Manson P. Discussion on trypanosomiasis. Br Med J 1903a;ii:645-8.

Manson P. Sleeping sickness and trypanosomiasis in a European: death: preliminary note. Br Med J 1903b;ii:1461-2.

Manson P, Daniels CW. Remarks on a case of trypanosomiasis. Br Med J 1903;i:1249-52.

Manson-Bahr PEC. African human trypanosomiasis. In: Manson-Bahr PEC, ed. Manson's Tropical diseases A manual of the diseases of warm climates. Twelfth Edition. London, Toronto, Melbourne, Sydney: Cassell and Co., Ltd; 1946:118-43.

Marchoux E. Rôle du pneumocoque dans la pathogénie de la maladie du sommeil. Ann Inst Pasteur 1899;13:193-208.

Martin L, Darré H. Trypanosomiase chez les Blancs. Bull Soc Pathol Ex 1908a;1:569-75.

Martin L, Darré H. Sur les symptômes nerveux du début de la maladie du sommeil. Bull. Soc. Path. Ex. 1908b;1:15-8.

Martin G, Leboeuf. Période d'incubation dans la maladie du sommeil. Inflammations locales à la suite de piqûres de glossines infectées. Bull Soc Pathol Ex 1908a;1:402-5.

Martin G, Leboeuf. Etude clinique sur la trypanosomiase humaine (maladie du sommeil). Ann Hyg Méd Coloniales 1908b;11:381-93.

Martin G, Leboeuf. De l'hypertrophie ganglionnaire dans la maladie du sommeil. Bull Soc Path Ex 1908c;1:221-4.

Martin G, Leboeuf. Diagnostic microscopique de la trypanosomiase humaine. Valeur comparée des divers procédés. Bull Soc Path Ex 1908d;1:126-34.

Martin G, Leboeuf. Etude clinique de la trypanosomiase humaine. In : Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909:301-16.

Martin L, Darré H. Forme cérébrale. In : Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909:325-39.

Martin L, Guillain G. Forme médullaire. In : Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909:317-24.

Martin L, Darré H. Remarques sur l'évolution et le pronostic de la trypanosomiase chez les Blancs. Bull Soc Path Ex 1910;3:389-98.

Martin G, Ringenbach. Troubles psychiques dans la maladie du sommeil. L'Encéphale 1910;5:625-71.

Martin L, Guillain G, Darré H. Formes nerveuses de la maladie. In : Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909a:317-39.

Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909b: Pp. 721.

Mattern P. Etat actuel et résultats des techniques immunologiques utilisées à l'Institut Pasteur de Dakar pour le diagnostic et l'étude de la trypanosomiase humaine africaine. Bull WHO 1968;38:1-8.

Mattern P, Pillot J, Bonnardot R. Contribution à l'étude des immuno-globulines du liquide céphalo-rachidien responsables du phénomène d'immuno-fluorescence dans la neuro-syphilis et dans la trypanosomiase nerveuse. Méd Afr Noire 1965;12:219-21.

Maxwell-Adams A. Trypanosomiasis and its cause. Br Med J 1903;i:721.

McKelvey EM, Fahey JL. Immunoglobulin changes in disease: quantitation on the basis of heavy polypeptide chains, IgG (gammaG), IgA (gammaA), and IgM (gammaM), and of light polypeptide chains, type K (I) and type L (II). J Clin Invest 1965;44:1778-87.

Melville SE. The African trypanosome genome project: focus on the future. Parasitol Today 1998;14:129-31.

Melville S. Le projet génome *Trypanosoma brucei* : accès aux données et analyse. In : Premier congrès international de Brazzaville sur la mouche tsé-tsé et les

trypanosomoses, 23-25 mars 2004. Milleliri JM, Louis FJ et Buguet A (eds.). Méd Trop 2004;64:121.

Mendes C, Kopke A. La maladie du sommeil à l'Ile du Prince. Rapport présenté au Ministère de la marine et des colonies par la Mission d'études dans l'Ile du Prince. Arch Hyg Path Ex 1909;2:283-350.

Miézan T, Doua F, Cattand P, De Raadt P. Evaluation du Testryp CATT appliqué au sang prélevé sur papier filtre et au sang dilué, dans le foyer de trypanosomiase à *Trypanosoma brucei gambiense* en Côte d'Ivoire. WHO Bull OMS 1991;69:603-6.

Miézan TW, Méda AH, Doua F, Cattand P. Evaluation des techniques parasitologiques utilisées dans le diagnostic de la trypanosomose humaine à *Trypanosoma gambiense* en Côte d'Ivoire. Bull Soc Path Ex 1994;87:101-4.

Miézan T, Méda HA, Doua F, Djè NN, Lejon V, Büscher P. Single centrifugation of cerebrospinal fluid in a sealed Pasteur pipette for simple, rapid and sensitive detection of trypanosomes. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2000;94:293.

Miletto G. Notes sur le liquide céphalique dans la trypanosomiase humaine africaine. Sem Hôp Paris 1951;27:466-9.

Millogo A, Nacro B, Bonkoungou P, Sanou M, Traoré S, Traoré H, Trall F. La maladie du sommeil chez l'enfant au Centre hospitalier de Bobo-Dioulasso : à propose de 3 observations. Bull Soc Path Ex 1999;92:320-2.

Molyneux DH. Control of parasitic diseases: context and overview. Adv Parasitol 2006;61:1-45.

Monge-Strauss MF, Millet AL, Bicakova-Rocher A, Mellerio F, De Recondo A, Florencio S. Désorganisation du rythme circadien veille/sommeil dans la trypanosomiase africaine humaine. Recueil de 2 enregistrements continus pendant 48h à 2 mois d'intervalle chez un sujet traité par alpha-difluorométhylornithine (DFMO). XIe Congrès de la Société française de recherche sur le sommeil, Caen, 1996.

Mongour C. Maladie du sommeil et myxoedème. Presse Méd 1898;78:172-3.

Montmayeur A, Buguet A. Sleep patterns of European expatriates in a dry tropical climate. J. Sleep Res 1992;1:191-6.

Montmayeur A, Buguet A. Time-related changes in the sleep-wake cycle of rats infested with *Trypanosoma brucei brucei*. Neurosci Lett 1994;168:172-4.

Montmayeur A, Brosset C, Imbert P, Buguet A. Cycle veille-sommeil au décours d'une trypanosomose humaine africaine à *Trypanosoma brucei rhodesienne* chez deux parachutistes français. Bull Soc Pathol Ex 1994;87:368-71.

Moser DR, Cook GA, Ochs DE, Bailey CP, McKane MR, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma congolense* and *Trypanosoma brucei* subpecies by DNA amplification using the polymerase chain reaction. Parasitology 1989;99:57-66.

Mott FW. The changes in the central nervous system of two cases of negro lethargy: sequel to Dr. Manson's clinical report. Br Med J 1899;i:1666-9.

Mott FW. Observations on the brains of men and animals infected with various forms of trypanosomes. Preliminary note. Proc Roy Soc London Series B 1905;76:235-42.

Mott FW. The microscopic changes in the nervous system in a case of chronic dourine or *mal de coït*, and comparison of the same with those found in sleeping sickness. Proc Roy Soc London Series B 1906a;78:1-12.

Mott FW. Histological observations on sleeping sickness and other trypanosome infections. In: Report of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society, Vol. 7. London: Harrison and Sons; 15 December 1906b:3-45.

Mpandzou GA. Trypanosomose humaine africaine : contribution à l'évaluation du diagnostic de stade au Congo. Thèse de doctorat en médecine, dactyl., Université Marien Ngouabi, Faculté des sciences de la santé, Brazzaville, 2007.

Mpandzou G, Ngampo S, Bandzouzi B, Bouteille B, Vincendeau P, Cespugio R, Buguet A. Polysomnographic diagnosis of meningoencephalitic *gambiense* African trypanosomiasis in an infant. Sci Med Afr 2009;1:105-9.

Mpandzou G, Cespuglio R, Ngampo S, Bandzouzi B, Bouteille B, Vincendeau P, Buguet A. Polysomnography for diagnosis and post-treatment follow-up tool in human African trypanosomiasis: a case study in an infant. J Neurol Sci 2011 in press.

Mumba Ngoyi D, Lejon V, Pyana P, Boelaert M, Ilunga M, Menten J, Mulunda JP, Van Nieuwenhove S, Muyembe Tamfum JJ, Büscher P. How to shorten patient follow-up after treatment for *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. J Infect Dis 2010;201:453-63.

Murray CJL. Quantifying the burden of disease: the technical basis for disability-adjusted life years. Bull WHO 1994;72:429-45.

Nantulya VM, Lindquist KJ. Antigen-detection enzyme immunoassays for the diagnosis of *Trypanosoma vivax*, *T. congolense* and *T. brucei* infections in cattle. Trop Med Parasitol 1989;40:267-72.

Nepveu G. Corps flagellé inclus dans les cellules blanches chez les paludiques. C. R Soc Biol 1891;43:699-701.

Nepveu G. Sur un trypanosome dans le sang de l'homme. C. R Soc Biol 1898;50:1172-4.

Neujean G, Evens F. Valeur pratique de l'hémoculture comme moyen diagnostic dans la trypanosomiase humaine à *T. gambiense*. Bull Soc Path Ex 1952;45:503-17.

Ngaira JM, Wani MC, Njenga JN, Guya SO. The use of MOPATT, CIATT, PCR and parasitological tests in spot check screening of high-risk communities in selected villages where sleeping sickness has recently been reported in Teso district, Kenya. In: 25th meeting of the international scientific council for trypanosomiasis research and control (ISCTRC). OAU/STRC, NAIROBI, 4. 1999.

Nicolas A. De la maladie du sommeil. Gaz Hebd Méd Chir 1861;8:670-3.

Nielly M. Maladie du sommeil. In: Nielly M (Ed.). Eléments de pathologie exotique. Paris: Adrien Delahaye et Emile Lecrosnier; 1881:513-22.

Njiru ZK, Mikosza ASJ, Matovu E, Enyaru JCK, Ouma JO, Kibona SN, Thompson RCA, Ndung'u JM. African trypanosomiasis: sensitive and rapid detection of the sub-genus *Trypanozoon* by loop-mediated isothermal amplification (LAMP) pf parasite DNA. Int J Parasitol 2008a;38:589-99.

Njiru ZK, Mikosza AS, Armstrong T, Enyaru JC, Ndung'u JM, Thompson AR. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) method for rapid detection of *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Plos Negl Trop Dis. 2008b;2:e147.

Noireau F, Gouteux JP, Frézil JL. Sensibilité du test d'agglutination sur carte (Testryp® CATT) dans les infections porcines à *Trypanosoma* (*Nannomonas*) *congolense* en République populaire du Congo. Ann Soc Belge Méd Trop 1986;66:63-8.

Noireau F, Gouteux JP, Duteurtre JP. Valeur diagnostique du test d'évaluation sur carte (Testryp CATT) dans le dépistage de masse de la trypanosomiase humaine au Congo. Bull Soc Path Ex 1987;80:797-803.

Noireau F, Lemesre JL, Nzoukoudi MY, Louembet MT, Gouteux JP, Frézil JL. Serodiagnosis of sleeping sickness in the Republic of the Congo: comparison of indirect immunofluorescent antibody test and card agglutination test. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1988a;82:237-40.

Noireau F, Apembet JD, Frézil JL. Revue clinique des troubles endocriniens observés chez l'adulte trypanosomé. Bull Soc Path Ex 1988b;81:464–7.

Noireau F, Force-Barge P, Cattand P. Evaluation of Testryp CATT applied to samples of dried blood for the diagnosis of sleeping sickness. Bull WHO 1991a;69:607-8.

Noireau F, Toudic A, Frézil JL. Red blood cell's auto-agglutination as an indicator test in human trypanosomiasis. J Trop Med Hyg 1991b;94:251-2.

Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, Hase T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acid Res 2000;28:e63.7 p.

O'Connell D. Neglected diseases. Nature 2007;449:157.

Odiit, M. Epidemiology of *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness in Eastern Uganda. Ph.D. doctoral dissertation. Edinburgh: University of Edinburgh, UK; 2003.

Odiit M, Shaw A, Welburn SC, Fèvre EM, Coleman PG, McDermott JJ. Assessing the patterns of health-seeking behaviour and awareness among sleeping-sickness patients in eastern Uganda. Ann Trop Med Parasitol 2004; 98:339-348.

Odiit M, Coleman PG, Liu WC, McDermott JJ, Fèvre EM, Welburn SC, Woolhouse ME. Quantifying the level of under-detection of *Trypanosoma brucei rhodesiense* sleeping sickness cases. Trop Med Int Health 2005;10:840-9.

Okomo-Assoumou MC, Geffard M, Daulouède S, Chaugier C, Lemesre JL, Vincendeau P. Circulating antibodies directed against tryptophan-like epitopes in sera of patients with human African trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg 1995a;52:461-7.

Okomo-Assoumou MC, Daulouède 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 1995b;53:539-43.

Olaho-Mukani W, Nyang'ao JMN, Ngaira JM, Omuse JK, Mbwabi D, Tengekyon KM, Njenga JN, Igweh AC. Immunoassay of circulating antigens in sleeping sickness patients undergoing treatment. J Immunoassay 1994;15:69-77.

Onyango RJ, van Hoeve K, de Raadt P. The epidemiology of *Trypanosoma rhodesiense* sleeping sickness in Alego location, central Nyanza, Kenya. I. Evidence that cattle may act as reservoir hosts of trypanosomes infective to man. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1966;60:175-82.

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 1998;70:349-54.

Papadopoulos MC, Abel PM, Agranoff D, Stich A, Tarelli E, Bell BA, Planche T, Loosemore A, Saadoun S, Wilkins P, Krishna S. A novel and accurate diagnostic test for human African trypanosomiasis. Lancet 2004;363:1358-63.

Parker DC, Sassin JF, Mace JW, Gotline RW, Rossman LG. Human growth hormone release during sleep: electroencephalographic correlation. J Clin Endocrinol Metab 1969;29:871-4.

Pearson TW, Liu M, Gardiner IC, Longridge D, Beecroft RP, Sayer PD, Gould SS, Waitumbi JN, Njogu AR. Use of procyclic trypanosomes for detection of antibodies in sera from vervet monkeys infected with *Trypanosoma rhodesiense*: an immunodiagnostic test for African sleeping sickness. Acta Trop 1986;43:391-9.

Penchenier L, Bodo JM, Bureau PH, Morlais I, Grébaut P, Djoha S, Herder S. Utilisation de la P.C.R. sur sang pour le diagnostic des trypanosomoses porcines. Bull Liais Doc -OCEAC 1996;29:50-3.

Penchenier L, Grébaut P, Ebo'o Eyenga V, Bodo JM, Njiokou F, Binzouli JJ, Simarro P, Soula G, Herder S, Laveissière C. Le foyer de trypanosomose humaine de Campo (Cameroun). Historique et situation de l'endémie en 1998. Aspects épidémiologiques, état de l'endémie et comparaison des CATT 13 et CATT LATEX/*T. b. gambiense* dans le dépistage de masse. Bull Liais Doc OCEAC 1998;31:8-19.

Penchenier L, Grébaut P, Ebo'o Eyenga V, Bodo JM, Njiokou F, Binzouli JJ, Simarro P, Soula G, Herder S, Laveissière C. Le foyer de trypanosomose humaine de Campo (Cameroun). Historique et situation de l'endémie en 1998. Bull Soc Path Ex 1999;92:185-90.

Penchenier L, Simo G, Grébaut P, Nkinin S, Laveissière C, Herder S. Diagnosis of human trypanosomiasis, due to *Trypanosoma brucei gambiense* in central Africa, by the polymerase chain reaction. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 2000;94:392-4.

Penchenier L, Grébaut P, Njokou F, Eyenga VE, Büscher P. Evaluation of LATEX/*T.b.gambiense* for mass screening of *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness in Central Africa. Acta Trop 2003;85:31-7.

Pépin J, Milord F. The treatment of human African trypanosomiasis. Adv Parasitol 1994;33:1-47.

Pépin J, Khonde N. Relapses following treatment of early-stage *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness with a combination of pentamidine and suramin. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1996;90:183-6.

Pépin J, Méda AA. The epidemiology and control of human African trypanosomiasis. Adv Parasitol 2001;49:72-132.

Picozzi K, Fèvre EM, Odiit M, Carrington M, Eisler MC, Maudlin I. Sleeping sickness in Uganda: a thin line between two final diseases. Br Med J 2005;331:1238-41.

Pinard M, Brumpt L, Raymondeau M. Présentation d'un malade atteint de trypanosomose, révélée tardivement par des convulsions et du prurit. Bull Mém Soc Méd Hôp Paris 1939;5:324-8.

Pinto RAC. Trypanosomiasis IHA test (indirect hemagglutination test) for the qualitative and quantitative detection of *T. gambiense* antibodies in human serum. Comparative study between IHA and IFT (indirect immunofluorescence). An Inst Hig Med Trop 1982;8:55-60.

Pittaluga G. Sobre los caracteros morfologicos y la Classificacion de los "trypanosomas". Rev Real Acad Ciencias 1905;2:1-49.

Plimmer, Bradford. Vorkaüfige Notiz über die Morphologie und Verbreitung in der Tsetsekranheit (Fly disease oder Nagana) des gefundenen Parasiten. Centr f Bakter 1899;26:440.

Poltera AA, Cox JN, Owor R. Pancarditis affecting the conducting system and valves in human African trypanosomiasis. Brit Heart J 1976;38:827-37.

Radermecker J. Corrélations électrocliniques dans la trypanosomiase humaine africaine et dans la trypanosomiase employée comme thérapeutique des affections psychiatriques graves. Acta Neurol Psychiat Belg 1955;55:179-218.

Radomski MW, Buguet A, Montmayeur A Bogui P, Bourdon L, Doua F, Lonsdorfer A, Tapie P, Dumas M. 24-hour plasma cortisol and prolactin in human African trypanosomiasis patients and healthy African controls. Am J Trop Med Hyg 1995;52:281-6.

Radomski MW, Buguet A, Doua F, Bogui P, Tapie P. Relationship of plasma growth hormone to slow-wave sleep in African sleeping sickness. Neuroendocrinology 1996;63:393-6.

Radwanska M, Chamekh M, Vanhamme L, Claes F, Magez S, Magnus E, de Baetselier P, Büscher P, Pays A. The serum resistance-associated gene as a

diagnostic tool for the detection of *Trypanosoma brucei rhodesiense*. Am J Trop Med Hyg 2002a;67:684-90.

Radwanska M, Claes F, Magez S, Magnus E, Perez-Morga D, Pays E, Büscher P. Novel primer sequences for polymerase chain reaction-based detection of *Trypanosoma brucei gambiense*. Am J Trop Med Hyg 2002b;67:289-95.

Radwanska M, Magez S, Perry-O'Keefe H, Stender H, Coull J, Sternberg JM, Büscher P, Hyldig-Nielsen JJ. Direct detection and identification of African trypanosomes by fluorescence *in situ* hybridization with peptide nucleic acid probes. J Clin Microbiol 2002c;40:4295-7.

Raoult A. La coloration du suc ganglionnaire dans la recherche du trypanosome en équipe de prospection. Ann Méd Pharm Coloniales 1938;36:126-37.

Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. Washington, D.C.: NIH publications n° 204, Public Health Service, U.S. Govt. Printing Office; 1968.

Rechtschaffen A, Wolpert E, Dement W, Mitchell S, Fischer C. Nocturnal sleep of narcoleptics. Electroenceph Clin Neurophysiol 1963;15:599-609.

Régis E, Gaide N. Rapports entre la maladie du sommeil et le myxoedème. Presse Méd 1898;81:193-4.

Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF) – a concept common to normal blood-CSF function and to dysfunction in neurological diseases. J Neurol Sci 1994;122:189-203.

Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis : disease-related data patterns and evaluation programs. J Neurol Sci 2001;184:101-22.

Reinhardt E. Travailler ensemble: la mouche tsé-tsé et la pauvreté rurale. ([Internet]. Available from: www.un.org/french/pubs/chronique/2002/numero2/0202p17_la_mouche_tse_tse.html. Chronique ONU, ONU Editor, September 2002.

Reports of the sleeping sickness commission. N° 1. London: Harrison and Sons; August 1903d: 3-10. Reprinted by Elibron Classics series, Adamant Media Corporation, 2005.

Rey JL, Frézil JL. Détection des trypanosomes par les méthodes immunologiques de Carrie et de Dutertre dans le foyer de Loudima (République Populaire du Congo). Conférence technique OCEAC, Brazzaville: Rapport ORSTOM; 1972.

Rhind SG, Sabiston BH, Shek PN, Buguet A, Muanga G, Stanghellini A, Dumas M, Radomski MW. Effect of melarsoprol treatment on circulating IL-10 and TNF-a levels in human African trypanosomiasis. Clin Immunol Imuunopathol 1997;83:185-9.

Robays J, Miaka Mia Bilenge C, Van der Stuyft P, Boelaert M. The effectiveness of active population screening and treatment for sleeping sickness control in the Democratic Republic of Congo. Trop Med Int Health 2004;9:542-50.

Rocha G, Martins A, Gama G, Brandao F, Atouguia J. Possible cases of sexual and congenital transmission of sleeping sickness. Lancet 2004;363:247.

Rogalle T, Doua F, Brault-Noble G, Fidier N, Buguet A. La technique QBC dans la détection des trypanosomes. Méd Trop 1995;56:3.

Ross R. Trypanosomatosis in man. Lancet 1902;i:107.

Roux. La maladie du sommeil. Le Caducée 1902:143-4.

Ruitenberg EJ, Buys J. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the serodiagnosis of human African trypanosomiasis (sleeping sickness). Am J Trop Med Hyg 1977;26:31-6.

Sabbah P, Brosset C, Imbert P, Bonardel G, Jeandel P, Briant JF. Human African trypanosomiasis: MRI. Neuroradiology 1997;39:708-10.

Sack J., Sazbon L., Lunenfeld B., Najenson T. Hypothalamic-pituitary function in patients with prolonged coma. J Clin Endocrinol Metab 1983;56:635-8.

Sack RL, Lewy AJ. Melatonin administration phase advances endogenous rhythms in humans. Sleep Res 1988;17:396.

Sambon LW. Note on the discovery of the human trypanosome. Lancet 1902;2:1576.

Sanner BM, Büchner N, Kotterba S, Zidek W. Polysomnography in acute African trypanosomiasis. J Neurol 2000;415:878-9.

Sassin JF, Parker DC, Mace JW, Gotlin RW, Johnson LC, Rossman LG. Human growth hormone release: relations to slow-wave sleep and sleep-waking cycles.

Science 1969;165:513-15.

Sassin JF, Frantz AG, Weitzman ED, Kapen S. Human prolactin: 24-hour pattern with increased release during sleep. Science 1972;177:1205-7.

Sassin JF, Frantz AG, Kapen S, Weitzman ED. The nocturnal rise of human prolactin is dependent on sleep. J Clin Endocrinol Metab 1973;37:436-40.

Scammell TE, Elmquist JK, Saper CB. Inhibition of nitric oxide synthase produces hypothermia and depresses lipopolysaccharide fever. Am J Physiol 1996;271:R333-R8.

Schieber JP, Muzet A, Ferrière JPR. Les phases d'activation transitoire spontanées au cours du sommeil normal chez l'homme. Arch Sci Physiol 1971;25:443-65.

Schmid C, Nkunku S, Merolle A, Vounatsou P, Burri C. Efficacy of a 10-day melarsoprol schedule 2 years after treatment for late-stage gambiense sleeping sickness. Lancet 2004;364:789-90.

Schulz H, Brandenberger G, Gudewill S, Hasse D, Kiss E, Löhr K, Pollmächer T, Follenius M. Plasma renin activity and sleep-wake structure of narcoleptic patients and control subjects under continuous bedrest. Sleep 1992;15:423-9.

Schwartz BA. La périodicité E.E.G. dans la maladie du sommeil : sa modulation par les stades du sommeil. Revue Electroenceph Neurophysiol Clin 1971;1:70-2.

Schwartz BA, Escande C. Sleeping sickness: sleep study of a case. Electroenceph Clin Neurophysiol 1970;29:83-7.

Schwetz J. Rapport sur les travaux de la Mission médicale antitrypanosomique du Kwango-Kasaï 1920-1923. Bruxelles: Goemaere, Imprimeur du Roi; 1924.

Seed JR. African trypansomiasis: 100 years of progress, but questions and problems still remain. Int J Parasitol 2001;31:434-42.

Semballa S, Geffard M, Daulouede S, Malvy D, Veyret B, Lemesre JL, Holzmuller P, Mnaimneh S, Vincendeau P. Antibodies directed against nitrosylated neoepitopes in sera of patients with human African trypanosomiasis. Trop Med Int Health 2004;9:1104-10.

Semballa S, Okomo-Assoumou MC, Holzmuller P, Büscher P, Magez S, Lemesre JL, Daulouède S, Courtois P, Geffard M, Vincendeau P. Identification of a tryptophan-

like epitope borne by the variable surface glycoprotein (VSG) of African trypanosomes. Exp Parasitol 2007;115:173-80.

Shaw APM. Economics of African trypanosomiasis. In: The trypanosomiasis. Maudlin I, Holmes PH, Miles MA (Eds.). Wallingford, U.K.: CABI International; 2004:369-402.

Sicard JA, Cantaloube P. Rachialbuminomètre. Bull Mém Soc Hôp Paris 1916;481-3.

Simarro P, Ruiz JA, Franco JR, Josenando T. Attitude towards CATT-positive individuals without parasitological confirmation in the African trypanosomiasis (*T. b. gambiense*) focus of Quiçama (Angola). Trop Med Int Health 1999a;4:858-61.

Simarro PP, Franco JR, Ndongo P. Field evaluation of several serological screening tests for sleeping sickness (*T. b. gambiense*). Bull Liais Doc OCEAC 1999b;32:28-33.

Simmaro PP, Jannin J, Cattand P. Eliminating human African trypanosomiasis : where do we stand and what comes next ? PlosMed 2008;5:174-80.

Singh B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. Int J Parasitol 1997;27:1135-45.

Solano P, Jamonneau V, N'Guessan P, N'Dri L, Dje NN, Miezan TW, Lejon V, Büscher P, Garcia A. Comparison of different DNA preparation protocols for PCR diagnosis of human African trypanosomosis in Côte d'Ivoire. Acta Trop 2002;82:349-56.

Spiegel K, Follenius M, Simon C, Saini J, Ehrhart J, Brandenberger G. Prolactin secretion and sleep. Sleep 1994;17:20-7.

Stanghellini A, Josenando T. The situation of sleeping sickness in Angola: a calamity. Trop Med Int Health 2001;6:330-4.

Stender H, Lund K, Petersen KH, Rasmussen OF, Hongmanee P, Miorner H, Godtfredsen SE. Fluorescence *in situ* hybridization assay using peptide nucleic acid probes for differentiation between tuberculous and nontuberculous species in smears of *Mycobacterium* cultures. J Clin Microbiol 1999;37:2760–5.

Stephan C, Just-Nuebling G, Fichtlscherrer S, Kriener S, Brodt HR. Winterbottom's sign and hypertrophic cardiomyopathy. Scand J Infect Dis; 2002;34:544-5.

Stephens JWW. The nomenclature of trypanosomes. Br Med J 1903;ii:1565.

Stevens JR, Gibson W. The molecular evolution of trypanosomes. Parasitol Today 1999;15:432-7.

Steverding D. A new initiative for the development of new diagnostic tests for human African trypanosomiasis. Kinetoplastid Biol Dis 2006;5:1-3.

Szenelyi J. Cytokines and the central nervous system. Brain Res Bull 2001;54:329-38.

Tabaraud F, Hugon J, Tapie P, Buguet A, Gati R, Lonsdorfer J, Bogui P, Doua F, Dumas M. Les potentiels évoqués dans la trypanosomiase humaine africaine. Congrès de Neurologie Tropicale, Limoges, 26-28 septembre 1991. Résumé publié dans : Buguet A. Modifications du sommeil et de l'éveil dans la trypanosomiase humaine africaine et comparaison avec les encéphalites spongiformes à virus non conventionnels. Méd Trop 1991;51:471-9.

Tabaraud F, Hugon J, Tapie P, Buguet A, Lonsdorfer A, Gati R, Doua F, Dumas M. Study of evoked potentials in human African trypanosomiasis. J Trop Med Hyg 1992;95:246-52.

Takahashi Y, Kipnis DM, Daughaday WH. Growth hormone secretion during sleep. J Clin Invest 1968;47:2079-90.

Tapie P, Buguet A, Tabaraud F, Gati R, Bogui P, Doua F, Lonsdorfer J, Dumas M, Bert J. Aspects morphologiques de l'électroencéphalogramme de veille et de sommeil dans la trypanosomiase humaine africaine. Congrès de Neurologie Tropicale, Limoges, 26-28 septembre 1991. Résumé publié dans : Buguet A. Modifications du sommeil et de l'éveil dans la trypanosomiase humaine africaine et comparaison avec les encéphalites spongiformes à virus non conventionnels. Méd Trop 1991;51:471-9.

Tapie P, Buguet A, Tabaraud F, Bogui P, Doua F, Bert J. EEG and polygraphic features in 24-hour recordings in sleeping sickness and healthy Africans. J Clin Neurophysiol 1996;13:339-44.

Thellier M, Datry A, Alfa Cisse O, Biligui S, Danis M. Diagnosis of malaria using thick bloodsmears: definition and evaluation of a faster protocol with improved readability. Ann Trop Med Parasitol 2002;96:115-24.

Todd JL. A review of the position of gland palpation in the diagnosis of human trypanosomiasis. J Trop Med Hyg 1908;11:229-33.

Todd JL. A note on the occurrence of auto-agglutination of the red-cells in human trypanosomiasis. Bull Soc Path Ex 1910;3:238-303.

Toth LA, Tolley EA, Broady R, Blakely B, Krueger JM. Sleep during exprerimental trypanosomiasis in rabbits. Proc Soc Exp Biol Med 1994;205:174-81.

Triolo N, Trova P, Fusco C, Le Bras J. Bilan de 17 années d'étude de la trypanosomiase humaine Africaine à « *Trypanosoma gambiense* » chez les enfants de 0 à 6 ans. A propos de 227 cas. Méd Trop 1985;45:251-7.

Truc P, Bailey JW, Doua F, Laveissière C, Godfrey DG. A comparison of parasitological methods for the diagnosis of Gambian trypanosomiasis in an area of low endemicity in Côte d'Ivoire. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1994;88:419-21.

Truc P, Formenty P, Duvallet G, Komoin-Oka C, Diallo PB, Lauginie F. Identification of trypanosomes isolated by KIVI from wild mammals in Côte d'Ivoire: diagnostic, taxonomic and epidemiological considerations. Acta Trop 1997;67:187-96.

Truc P, Jamonneau V, Cuny G, Frézil JL. Use of polymerase chain reaction in human African trypanosomiasis stage determination and follow-up. Bull WHO 1999;77:745-8.

Truc P, Lejon V, Magnus E, Jamonneau V, Nangouma A, Verloo D, Penchenier L, Büscher P. 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 WHO 2002;80:882-6.

Valentin GG. Ueber eienen Entozoon im Blute von Salmo fario. Arch Anat Physiol Wissensch Med 1841;435-6.

Van den Corput. Note sur une théorie nouvelle de la maladie du sommeil (cathypnose ou toxinose du sommeil). Bull Acad Roy Méd Belg 1901:811-6.

Van Meirvenne N, Magnus E, Büscher P. Evaluation of variant specific trypanolysis tests for serodiagnosis of human infection with *Trypanosoma brucei gambiense*. Acta Trop 1995;60:189-99.

Van Meirvenne N. Biological diagnosis of human African trypanosomiasis. In : Dumas M, Bouteille B, Buguet A. Progress in human African trypanosomiasis, sleeping sickness. Paris: Springer Verlag; 1999:235-52.

Van Nieuwenhove S. Present strategies in the treatment of human African trypanosomiasis. In : Dumas M, Bouteille B, Buguet A. Progress in human African trypanosomiasis, sleeping sickness. Paris: Springer Verlag; 1999:253-81.

Vervoort T, Magnus E, Van Meirvenne N. Serological tests for sleeping sickness: importance of antigen selection. In: Symposium on the diagnosis of African sleeping sickness due to *T. gambiense*, Antwerp 16-17 November 1983. Crooy PJ (Ed.). Rixensart: Smith Kline-RIT; 1983:47-50.

Vivie. Etat sanitaire et maladies observées à la Côte d'Ivoire pendant l'année 1905. Ann Hyg Med Coloniales 1907;10:114-29.

Vogel HP, Kroll M, Fritschka E, Quabbe HJ. Twenty-four-hour profiles of growth hormone, prolactin, and cortisol in the chronic vegetative state. Clin Endocrinol 1990;33:631-43.

Voller A, Bidwell D, Bartlett A. A serological study on human *Trypanosoma rhodesiense* infections using a micro-scale enzyme linked immunosorbent assay. Tropenmed Parasitol 1975;26:247-51.

Wang CC. Molecular mechanisms and therapeutic approaches to the treatment of African trypanosomiasis. Annu Rev Pharmacol Toxicol 1995;35:93-127.

Welburn S, Odiit M. Recent developments in human African trypanosomiasis. Curr Opin Infect Dis 2002;15:477-84.

Welburn SC, Picozzi K, Fèvre EM, Coleman PG, Odiit M, Carrington M, Maudlin I. Identification of human-infective trypanosomes in animal reservoir of sleeping

sickness in Uganda by means of serum-resistance-associated (*SRA*) gene. Lancet 2001;358:2017-9.

Wéry M. Trypanosomoses africaines, maladie du sommeil. Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris. Encycl Méd Chir Maladies Infectieuses 8-504-A-20 : 2000 1-20.

Wéry M, Wéry-Paskoff S, van Wettere. The diagnosis of human African trypanosomiasis *(T. gambiense)* by the use of fluorescent antibody test. I. Standardisation of an easy technique t o be used in mass surveys. Ann Soc Belge Méd Trop 1970;50:613-34.

Whittle HC, Greenwood M, Bidwell DE, Bartlett, Voller A. IgM and antibody measurement in the diagnosis and management of Gambian trypanosomiasis. Am J Trop Med Hyg 1977;26:1129-34.

WHO. Trypanosomiasis control manual. WHO: Geneva; 1983:1-142.

WHO. Epidemiology and control of African trypanosomiasis. In. Geneva: World Health Organization; 1986:1-127.

WHO. Control and surveillance of African trypanosomiasis. Report of a WHO Expert Committee. Report No.: WHO Technical Report Series 881. Geneva: World Health Organization; 1998.

WHO. Tropical Disease Research. Progress 1999-2000. Fifteenth Programme Report. Geneva: World Health Organization; 2001.

WHO. Report of the scientific working group meeting on African trypanosomiasis (sleeping sickness). TDR/SWG/01 Geneva: WHO/TDR, 2003.

WHO. Recommendations of the informal consultation on issues for clinical product development for human African trypanosomiasis (WHO/CDS/NTD/IDM/2007.1). Geneva: World Health Organization; 2007.

Wiggins CA. Notes on sleeping sickness. Lancet 1902;160:1622-3.

Winterbottom T. An account of the native Africans in the neighbourhood of Sierra Leone to which is added an Account of the present state of medicine among them. London: C. Whittingham and John Hatchard; 1803. Second edition, London: Frank Cass &Co. Ltd.: 1969.

Wolga JI, Ribeiro CD, Gaillat JP, Stahl JP, Micoud M, Gentilini M. Autoanticorps dans les trypanosomiases humaines africaines (anticorps anti-muscle lisse au cours d'une maladie à *Trypanosoma gambiense*). Bull Soc Path Ex 1981;74:676-84.

Woo PTK. The haematocrit centrifuge technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. Acta Trop 1970;27:384-6.

Woo PTK. Evaluation of the haematocrit centrifuge and other techniques for the field diagnosis of human trypanosomiasis and filariasis. Acta Trop 1971;28:298-303.

Zillmann U, Albiez EJ. The Testryp CATT (card-agglutination test for trypanosomiasis): a field study on *gambiense* sleeping sickness in Liberia. Trop Med Parasitol 1986;37:390-2.

Zola JM, Wassoumbou-Loubienga S, Goma GC, Mouanga-Yidika G. Méningoencéphalite aiguë à *Trypanosoma brucei gambiense* révélée par un oedème papillaire. Bull Soc Path Ex 1994;87:312-4.

Livres consultés

Atkins J. The Navy surgeon or, a practical system of surgery. London: Caesar Ward and Richard Chandler; 1734.

Austen EE. A monograph of the tsetse flies (Genus *Glossina*), based on the collection in the British Museum. London: Longmans and Co.; 1903.

Bado JP. Médecine coloniale et grandes endémies en Afrique. Lèpre, trypanosomiase humaine et onchocercose. Paris: Editions Karthala; 1996.

Balfour A, Van Campenhout E, Martin G, Bagshawe AG. Rapport provisoire sur la tuberculose et la maladie du sommeil en Afrique équatoriale. Genève: Société des Nations; 26 mai 1923.

Balfour A, Van Campenhout E, Martin G, Bagshawe AG. Rapport complémentaire sur la tuberculose et la maladie du sommeil en Afrique équatoriale. Genève: Société des Nations; avril 1923.

Barrett JC. Economic issues in trypanosomiasis control. The University of Greenwich, Natural Resources Institute, Bulletin 75. Totton, Hampshire: Hobbs the Printers, Ltd.; 1997.

Bettencourt A, Kopke A, De Rezende G, Mendes C. La maladie du sommeil. Rapport présenté au Ministère de la marine et des colonies par la Mission envoyée en Afrique occidentale portugaise. Lisbonne: Imprimerie de Libanao Da Silva; 1903.

Billiard M, Dauvilliers Y. Les troubles du sommeil. Paris: Masson; 2005.

Broden A, Rodhain J. Rapport sur les travaux faits au Laboratoire de la Société belge d'études coloniales à l'hôpital des Noirs et au Lazaret pour trypanosomiés à Léopoldville (Congo belge) 1907-1908. Société belge d'études coloniales (Ed.). Bruxelles: Hayez, Imprimeur des Académies royales de Belgique; 1908.

Buisson B, Blanc A. Sur quelques aspects de la chronobiologie. Saint-Etienne: Publications de l'Université de Saint-Etienne; 2004.

Campenhout V. La maladie du sommeil. Bruxelles: Etablissements d'Imprimerie L. Severeyns; 1910.

Coleman W. African sleeping sickness. Stories & poems. Santa Rosa, CA, USA: Black Sparrow Press; 1993.

Collomb H. Pathologie exotique. Neurologie. IV. Lèpre ; trypanosomiase. Cours de l'E.A.C.I.R.S.S.T.C. (Ecole du service de santé des troupes coloniales). Marseille: Le Pharo; 1958.

Cook GC. Manson's Tropical diseases. Twentieth Edition. London, Philadelphia, Sydney, Tokyo: Saunders; 1996.

Corre A. Traité clinique des maladies des pays chauds. Paris: Octave Doin, Editeur; 1887.

Curé M. Le risque biologique. Paris: Masson; 2004.

Dumas M, Bouteille B, Buguet A. Progress in human African trypanosomiasis, sleeping sickness. Paris, Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hong Kong, London, Milan, Singapore, Tokyo: Springer-Verlag France; 1999.

Dutrouleau AF. Traité des maladies des Européens dans les pays chauds. Paris: Baillières; 1861.

Dutton JE, Todd J. First report of the trypanosomiasis expedition to Senegambia of the Liverpool School of Tropical Medicine and Medical Parasitology. Liverpool: The University Press of Liverpool; 1904.

Dutton JE, Todd J, Christy C. Reports of the trypanosomiasis expedition to the Congo 1903-1904 of the Liverpool School of Tropical Medicine and Medical Parasitology. Liverpool: The University Press of Liverpool; 1904.

Gauthier F. Lutte contre la trypanosomiase et la lèpre en Afrique 1953-1960. Mission d'une équipe médicale mobile de prospection du Service général s'hygiène et de prophylaxie. Paris: Editions des Ecrivains; 2000.

Joyeux Ch, Sicé A. Précis de médecine coloniale. Seconde édition. Collection de Précis médicaux.Paris: Masson et Cie; 1937.

Lapeyssonnie L. Moi, Jamot; le vainqueur de la maladie du sommeil. Bruxelles: Presses de l'INAM; Louis Musin; 1987.

Lapeyssonnie L. La médecine coloniale; mythes et réalités. Paris: Seghers; 1988.

Laveissière C, Grébaut P, Herder S, Penchenier L. Les glossines vectrices de la trypanosomiase humaine africaine. Yaoundé, Cameroun: Imprimerie Louis-Jean, Gap; 2000.

Laveran A, Mesnil F. Trypanosomes et trypanosomiases. Paris: Masson et Cie, Editeurs, Libraires de l'Académie de médecine; 1904.

Le Dantec. Précis de pathologie exotique (maladies des pays chauds et des pays froids). 2 Vol. Paris: Octave Doin, Editeur; 1929.

Lee-Chiong LT. Sleep: A comprehensive handbook. Hoboken: Wiley; 2006.

Lhermitte J. La maladie du sommeil et les narcolepsies. Bruxelles: Etablissements d'imprimerie L. Severeyns; 1910.

Lyons M. The colonial disease. A social history of sleeping sickness in northern Zaïre, 1900-1940. Cambridge, New York, Port Chester, Melbourne, Sydney: Cambridge University Press; 1992.

Manson-Bahr PEC. Manson's Tropical diseases A manual of the diseases of warm climates. Eleventh Edition. London, Toronto, Melbourne, Sydney: Cassell and Co., Ltd; 1940, reprinted September 1942.

Manson-Bahr PEC. Manson's Tropical diseases A manual of the diseases of warm climates. Twelfth Edition. London, Toronto, Melbourne, Sydney: Cassell and Co., Ltd; 1946.

Manson-Bahr PEC. Manson's Tropical diseases A manual of the diseases of warm climates. Fourteenth Edition. London, Toronto, Melbourne, Sydney: Cassell and Co., Ltd; 1954; reprinted 1957.

Manson-Bahr PEC, Bell DR. Manson's Tropical diseases. Nineteenth Edition. London, Philadelphia, Sydney, Tokyo: Baillière.Tindall; 1987.

Martin G, Leboeuf, Roubaud. Rapport de la mission d'études de la maladie du sommeil au Congo français 1906-1908. Paris: Masson et Cie Editeurs; 1909.

Maudlin I, Holmes PE, Miles MA. The trypanosomiases. Wallingford, UK, and Cambridge, Mass., USA: CABI Publishing; 2003.

Mulligan HW, Potts WH, Kershaw WE. The African trypanosomiasis. London: George Allen and Unwin Ltd.; 1970.

Parry EHO. Principles of medicine in Africa. Second Edition. Oxford, Nairobi: Oxford University Press; 1984.

Peruzzi M. Observations anatomo-pathologiques et sérologiques sur les trypanosomiases. Genève: Société des Nations; 1928.

Rapport de la deuxième conférence internationale de la maladie du sommeil tenue à Paris du 5 au 7 novembre 1928. Genève: Organisation d'hygiène de la Société des Nations; décembre 1928

Reports of the sleeping sickness commission. N° 1. London: Harrison and Sons; August 1903d: 3-10. Reprinted by Elibron Classics series, Adamant Media Corporation, 2005.

Reports of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society, Vol. 6. London: Harrison and Sons; 1905.

Report of the Sleeping Sickness Commission of the Royal Society, Vol. 7. London: Harrison and Sons; 1906.

Reports of the Sleeping Sickness Commisssion of the Royal Society, Vol. 8. London: Darling and Son; 1907.

Reynes V. Précis d'épidémiologie et prophylaxie des grandes endémies tropicales. Marseille : Editions M. Leconte ; 1930.

Schwetz J. Rapport sur les travaux de la Mission médicale antitrypanosomique du Kwango-Kasaï 1920-1923. Bruxelles: Goemaere, Imprimeur du Roi; 1924.

Sicé A. La trypanosomiase humaine en Afrique intertropicale. Paris: Vigot Frères; 1937.

Van campenhout. La maladie du sommeil. Rapport présenté au Vingtième congrès des médecins aliénistes et neurologistes de France et des pays de langue française, Bruxelles-Liège, 1-7 août 1910. Bruxelles: Etablissements d'imprimerie L. Severeyns; 1910.

Vaucel M. Trypanosomiases humaines africaines. In : Vaucel M. Médecine tropicale, Vol. 1. Paris: Editions médicales Flammarion; 1952:503-91. Mise à jour 1954 et 1968.

Wilcocks C, Manson-Bahr PEC. Manson's Tropical diseases. Seventeenth Edition. London: Baillière.Tindall; 1972.

Winterbottom T. An account of the native Africans in the neighbourhood of Sierra Leone to which is added an Account of the present state of medicine among them. London: C. Whittingham and John Hatchard; 1803. Second edition, London: Frank Cass &Co. Ltd.; 1969.

Thèses et mémoires consultés

Banzet S. Monoxyde d'azote et maladie du sommeil. Thèse de doctorat en médecine. Lyon: dactyl. Université Claude-Bernard-Lyon 1; 1997. Prix de thèse de l'Ecole du service de santé des armées Lyon-Bron 1997.

Bascoulergue P. La trypanosomiase en dehors des territoires d'endémie (Européens rapatriés, Noirs expatriés). Thèse de doctorat en médecine. Lyon: dactyl. Faculté de médecine et de pharmacie de Lyon; 1943.

Berge B. La trypanosomiase humaine africaine et expérimentale–modélisation stochastique de la veille et du sommeil et approches chronobiologiques. Thèse de doctorat d'université. Saint-Etienne: dactyl. Université de Saint-Etienne; 2005.

Billac A. Trypanosomose humaine africaine : valeur de recherche d'auto-anticorps dirigés contre des constituants du système nerveux central dans le diagnostic et le suivi post-thérapeutique. Mémoire de Mastère 2 recherche. Limoges: dactyl. Université de Limoges; 2007.

Bisser S. Le diagnostic de l'atteinte nerveuse dans la maladie du sommeil. Réévaluation des critères de terrain et apport des marqueurs neuro-immunologiques. Thèse de doctorat d'université. Limoges: dactyl. Université de Limoges; 2001.

Bouteille Bernard. La trypanosomose humaine africaine : des modèles expérimentaux à la physiopathologie et à l'approche thérapeutique de la maladie du sommeil. Thèse de doctorat (neurosciences). Lyon: dactyl. Université Claude-Bernard Lyon 1; 2003.

Buguet-Brown ML. Trypanosomose humaine africaine : historique, clinique et évaluation de la guérison par l'analyse des graphoéléments d'activation EEG du sommeil chez deux patients traités.Thèse de doctorat en médecine. Lyon: dactyl. Université Claude-Bernard-Lyon 1; 1996.

Carles J. De l'émigration. Relation médico-hygiénique de cinq voyages à l'émigration africaine et indienne de 1858 à 1862. Thèse de doctorat en médecine. Montpellier: Université de Montpellier; 1863.

Chevrier C. Approche physiopathologique et chronobiologique de la trypanosomose africaine expérimentale. Thèse de doctorat d'université, mention neurosciences. Lyon: dactyl. Université Claude-Bernard-Lyon 1; 2005.

Darsaud A. Etude de l'atteinte neurophysiologique au cours de la trypanosomose humaine africaine (THA) et de la dysrythmie circadienne du cycle veille-sommeil chez le rat. Thèse d'université (neuropathologie). Limoges: Université de Limoges; 2003.

Del Pino F. Apport de la technique PCR dans le diagnostic et l'identification des trypanosomes. Mémoire de Mastère. Montpellier: Institut recherche et développement; 1999.

Dutertre J. Contribution à l'étude de l'encéphalite de la maladie du sommeil (intérêt de la pneumo-encéphalographie dans les corrélations bio-anatomo-cliniques. Bordeaux: dactyl. Faculté de médecine; 1955.

Gati R. Sommeil normal en Afrique tropicale et cycle veille-sommeil dans la trypanosomiase humaine africaine. Thèse de doctorat d'université (biologie humaine). Lyon: dactyl. Université Claude-Bernard-Lyon 1; 1992.

Guérin PMA. De la maladie du sommeil. Thèse de doctorat en médecine. Paris : A. Parent, Imprimeur de la Faculté de médecine; 1869.

Hassnaoui M. Méthodes non paramétriques d'analyse de séries temporelles fortement bruitées : application à la recherche de périodes en chronobiologie. Thèse de doctorat (mathématiques). Saint-Etienne: Université Jean-Monnet de Saint-Etienne; 1999.

Jamot J. Début et évolution de la trypanosomiase humaine chez l'Européen. Thèse de doctorat en médecine. Marseille: Imprimerie Ant. GED; 1932.

Keita M. Etudes histologiques et immunohistologiques de l'évolution de la pathologie du système nerveux central au cours de la trypanosomose humaine africaine. Utilisation d'un modèle chronique chez la souris infectée par *Trypanosoma brucei brucei*. Thèse de doctorat (sciences de la vie). Limoges: dactyl. Université de Limoges; 1998.

Laigret L. Contribution à l'étude du traitement et de la prophylaxie de la maladie du sommeil Thèse de doctorat en médecine. Paris: Faculté de médecine de Paris; 1928.

Loevenbruck L. Observations faites sur la trypanosomiase humaine en Afrique. Thèse de doctorat en médecine. Strasbourg: Faculté de médecine de Strasbourg, Imprimerie Ch. & J. Goeller; 1935.

Lundkvist GB. Circadian rhythm dysfunction in the suprachiasmatic nucleus: effects of *Trypanosoma brucei brucei* infection and inflammatory cytokines. Doctoral dissertation. Stockholm: Karolinska University Press; 2001.

Mayoulou-Niamba JB. Etat actuel de la trypanosomiase humaine et moyen de lutte au Congo. Thèse de doctorat en médecine. Bordeaux: dactyl. Faculté de médecine de Bordeaux; 1970.

Mpandzou GA. Trypanosmose humaine africiane : contribution à l'évaluation du diagnostic de stade au Congo. Thèse de doctorat en médecine. Brazzaville: dactyl. Université Marien-Ngouabi; 2007.

Okomo-Assoumou MC. Mécanismes autoimmuns et perturbations du réseau des cytokines dans la physiopathologie de la trypanosomose humaine africaine. Thèse de doctorat (sciences biologiques et médicales). Bordeaux: dactyl. Université de Bordeaux II; 1995.

Seixas JBA. Investigations on the encephalopathic syndrome during melarsoprol treatment of human African trypanosomiasis. Ph.D. Dissertation. Lisbon: Universidade Nova de Lisboa; 2004.

Semballa S. Identification de mécanismes immunopathologiques dans la trypanosomose humaine africaine : anticorps et immunomodulateurs. Thèse de doctorat (sciences biologiques et médicales). Bordeaux: dactyl. Université de Bordeaux II; 2003.

La trypanosomose humaine africaine (maladie du sommeil) est due à la piqûre de la glossine (mouche tsé-tsé) qui transmet à l'homme Trypanosoma brucei (T. b.) gambiense en Afrique de l'Ouest et Centrale ou T. b. rhodesiense, en Afrique de l'Est. La maladie évolue du stade 1 lymphaticosanguin au stade 2 méningo-encéphalitique, après pénétration du trypanosome dans le système nerveux central. Non traité, le patient meurt en quelques mois. Le traitement du stade 1 à T. b. gambiense par la pentamidine pose peu de problèmes. Par contre, celui du stade 2 fait appel à des molécules toxiques (mélarsoprol) ou difficiles à administrer en dehors d'une structure hospitalière (éflornithine, et récemment éflornithine + nifurtimox). Il est donc crucial de faire un diagnostic précis et précoce de la maladie et de déterminer le stade évolutif le plus tôt possible. Le livre passe en revue les méthodes diagnostiques utilisées depuis l'épidémie du début du 20e siècle, cliniques puis biologiques, qui n'ont réellement évolué que récemment. Il propose aussi des approches novatrices, avec les techniques modernes mises en place ou en voie de l'être.

Alain Buguet, Francis Louis, Bernard Bouteille

Pr. Alain Buguet, M.D., PhD., Polyclinique Marie-Louise Poto Djembo, Pointe-Noire, Congo. Raymond Cespuglio, Ph.D., Centre de recherche en neurosciences de Lyon, Université Claude-Bernard Lyon 1. Francis Louis, M.D., coordonnateur du PSR-THA/OCEAC, Yaoundé, Cameroun. Bernard Bouteille, Pharm.D., Ph.D., CHU Dupuytren , Limoges.

9 786131 564642

978-613-1-56464-2