

# 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

T. Miezán,<sup>1</sup> F. Doua,<sup>1</sup> P. Cattand,<sup>2</sup> & P. de Raadt<sup>2</sup>

*La microméthode décrite avec le Testryp CATT est réalisée sur des prélèvements de sang sur papier filtre ou sur du sang dilué. Cette méthode est évaluée avec les deux types de prélèvements en parallèle et avec le Testryp CATT sur sang total selon les instructions données par le fabricant. Au total 2087 personnes ont été testées dont 453 au laboratoire et 1634 au cours d'une prospection de masse dans 5 villages du foyer de Daloa (Côte d'Ivoire). Cette étude a montré que le microtest CATT sur l'une ou l'autre des méthodes de prélèvement donne des résultats comparables au Testryp CATT sur sang total. Les prélèvements de sang sur papier filtre peuvent être réalisés par du personnel non spécialisé dans le cadre de la lutte contre la trypanosomiase des services de santé nationaux. De plus, un flacon de réactif CATT permet de réaliser 6 fois plus de tests par la microméthode que par la méthode sur sang total. La microméthode est une bonne approche pour la mise en œuvre de programmes de surveillance sérologique des populations à risque.*

## Introduction

Le Testryp CATT (1, 2) et l'immunofluorescence indirecte (3-5) sont des tests sérologiques utilisés pour le dépistage précoce de la maladie du sommeil à *Trypanosoma brucei gambiense*. L'immunofluorescence indirecte peut être aisément appliquée à des prélèvements de sang sur papier filtre mais nécessite pour sa mise en œuvre un microscope à fluorescence et un personnel qualifié.

Le Testryp CATT, contrairement à l'immunofluorescence, est de réalisation facile sur le terrain et ne nécessite aucun appareil coûteux. Il n'a par contre jamais été mis en œuvre sur des prélèvements de sang sur papier filtre.

Dans le cadre d'une surveillance systématique de la population à risque, le prix relativement élevé du réactif CATT est une entrave à son utilisation dans la plupart des pays d'endémie sommeilleuse.

Le présent travail a deux objectifs principaux : —appliquer le Testryp CATT à des prélèvements de sang sur papier filtre permettant la mise en œuvre de programmes de surveillance dans le cadre des services de soins de santé primaires;

—réduire le coût par personne testée en réduisant la quantité de réactif nécessaire à sa réalisation, sans toutefois en altérer les qualités.

Le Testryp CATT appliqué au prélèvement de sang sur papier filtre et au sang dilué et réalisé avec des quantités de réactif réduites a été respectivement appelé : "microtest CATT sur confetti" et "microtest CATT sur sang dilué". Ces deux tests ont été évalués en parallèle et avec le Testryp CATT sur sang total et sur plasma selon les instructions fournies par le fabricant.

## Matériel et méthode

### *Microtest sur confetti*

**Prélèvement de sang sur papier filtre.** Quelques gouttes de sang des sujets à examiner obtenues par ponction digitale sont absorbées sur une feuille de 3 × 7 cm de papier filtre Whatman n° 1 ou 4. Le prélèvement est ensuite séché à l'ombre pendant environ une heure et mis à l'abri de l'humidité dans un flacon étanche contenant du gel de silice. Les prélèvements peuvent être analysés soit sur le terrain soit au laboratoire. L'analyse peut être différée 2 à 3 mois si les flacons fermés sont conservés au réfrigérateur à 4°C ou au congélateur (-20°C).

**Elution des prélèvements de sang sur papier filtre.** Pour chaque prélèvement effectué 5 rondelles de 5 mm de diamètre sont découpées à l'emporte-pièce et placées

<sup>1</sup> Projet de Recherches Cliniques sur la Trypanosomiase (PRCT), Boîte postale 1425, Daloa (Côte d'Ivoire). Les demandes de tirés à part doivent être envoyées à cette adresse.

<sup>2</sup> Organisation mondiale de la Santé, Unité Lutte contre les Trypanosomiasés et les Leishmaniosés, Genève (Suisse).

Tableau 1: Résultats de la parasitologie (mini-colonne échangeuse d'anions) et de la sérologie avec chacune des trois méthodes du Testryp CATT (sang total, microtest sur confetti et microtest sur sang dilué) à l'hypnosérie

Sérologie Testryp CATT	Parasitologie		
	Tryp +	Tryp -	Total
CATT sur sang total			
Positif +	56	12	68
Négatif -	0	385	385
Microtest CATT sur confetti			
Positif +	56	7	63
Négatif -	0	390	390
Microtest CATT sur sang dilué			
Positif +	56	5	61
Négatif -	0	392	392
Total	56	397	453

dans un puits de plaque Microwell à fond plat où ont été préalablement déposés 100 µl de tampon CATT. La plaque est ensuite agitée doucement à la main pendant une quinzaine de secondes pour bien imbiber les confettis puis couverte et incubée 30 min à température ambiante.

**Réalisation du microtest sur confetti.** Huit microlitres d'éluat de confettis sont déposés sur une plage de réaction d'une lame multitest micro-imprimée (Flow ou BioMérieux) et additionnés de 8 µl de réactif CATT reconstitué selon les instructions du fabricant. Les solutions sont mélangées soigneusement à la main avec une baguette en plastique fournie avec les accessoires du CATT. La lame est posée sur une feuille de papier blanc sur un agitateur rotatif (Smith Kline) et agitée 5 min. Le fond blanc facilite la lecture de l'agglutination. L'observation d'agglutinats bleus traduit une réaction positive. L'utilisation d'une loupe de grossissement 2,5 × améliore la lecture.

Tableau 2: Résultats de la parasitologie (mini-colonne échangeuse d'anions) et de la sérologie avec chacune des trois méthodes du Testryp CATT (sang total, microtest sur confetti et microtest sur sang dilué) en prospection

Villages prospectés	Nombre de sujets examinés	Nb positifs CATT sur sang total	Nb positifs microtest confetti	Nb positifs microtest sang dilué	Nombre de sujets tryp +
Gueguigbeu 1	256	10	8	8	5
Gueguigbeu 2	139	3	3	3	2
Guetuzon-Dylea	487	15	9	8	5
Zahrougbeu-Nime	408	6	3	3	1
Zakogbeu	344	5	3	4	3
Total	1634	39	26	26	16

### Microtest sur sang dilué

**Prélèvement et dilution du sang.** Le sang de la personne à examiner est prélevé par ponction digitale à l'aide d'un vaccinostyle dans un tube capillaire hépariné. Afin d'éviter la coagulation du prélèvement, il faut faire couler le sang d'une extrémité du tube à l'autre en lui donnant une légère inclinaison, mais en faisant attention à ne pas laisser échapper le sang du tube (6). Une goutte est déposée dans un puits d'une plaque de microtitrage à fond rond contenant 75 µl de tampon CATT immédiatement avant l'exécution de la réaction. Le tout est mélangé soigneusement à l'aide de la baguette en plastique.

**Réalisation du microtest CATT sur sang dilué.** Huit microlitres du sang dilué sont prélevés à l'aide d'une pipette, déposés sur une plage de réaction d'une lame multitest et additionnés de 8 µl de réactif CATT. Comme pour le microtest CATT sur confetti les solutions sont mélangées et la lame placée sur un agitateur.

## Résultats

### Évaluation du microtest au laboratoire

Un total de 453 personnes vues en consultation à l'hypnosérie ont été testées en parallèle au Testryp CATT sur sang total et au microtest CATT sur confetti et sur sang dilué. Toutes les personnes testées par les trois méthodes ont fait l'objet d'une recherche parasitologique à la mini-colonne échangeuse d'anions (MAECT) (7). Sur les 453 personnes testées, 56 ont eu une confirmation parasitologique et toutes ont été trouvées positives au Testryp CATT sur sang total, au microtest CATT sur confetti et au microtest CATT sur sang dilué (tableau 1).

### Évaluation du microtest CATT en prospection de masse

Cinq villages du foyer de Daloa en Côte d'Ivoire ont été prospectés en utilisant en parallèle le Testryp CATT sur sang total et le microtest CATT sur sang

dilué. Des prélèvements de sang sur papier filtre ont été réalisés sur toute la population concernée par la prospection et analysés ultérieurement au laboratoire.

Sur 1634 personnes le Testryp CATT sur sang total a révélé 39 positifs (2,4%) et le microtest CATT 26 (1,6%). La parasitologie a confirmé 16 cas (1%) positifs à la fois avec les deux méthodes sérologiques.

L'analyse des prélèvements de sang sur papier filtre effectuée au laboratoire par la méthode du microtest CATT a révélé 26 positifs, les mêmes qu'au microtest CATT sur sang dilué (tableau 2).

Un flacon de réactif CATT reconstitué permet de réaliser environ 50 Testryp CATT sur sang total, contre environ 300 tests avec le microtest CATT, que ce soit à partir d'éluat de confettis ou de sang dilué.

## Discussion

Cette évaluation montre une bonne concordance des résultats des trois méthodes. L'avantage majeur du microtest est de pouvoir réaliser six fois plus de tests à partir d'un seul flacon de réactif CATT, aspect non négligeable dans la situation économique actuelle des pays en développement. Dans le cas de la Côte d'Ivoire, en tenant compte de tous les accessoires nécessaires à la réalisation d'un microtest CATT, mais sans considération de la main-d'œuvre ou des frais de prospection, on peut estimer le coût à 50 francs CFA par personne testée contre 170 pour un test CATT sur sang total.

Un autre avantage qui nous a semblé très important est la possibilité d'appliquer le CATT aux prélèvements de sang sur papier filtre. Ces prélèvements peuvent être faits dans le cadre des services curatifs ou des soins de santé primaires, par un personnel non spécialisé dans la lutte antiparasitaire. L'analyse de ces prélèvements peut ensuite avoir lieu dans les laboratoires de base des secteurs de santé rurale, sans pour autant devoir les équiper d'un matériel aussi sophistiqué et fragile que le microscope à fluorescence.

Le microtest CATT est un bon test sérologique de dépistage des cas présumés, qui peut être réalisé comme le Testryp CATT sur sang total au cours des prospections de masse sans que sa qualité soit altérée.

## Remerciements

Cette étude a bénéficié du soutien financier du Programme spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS de recherche et de formation concernant les maladies tropicales.

Les auteurs expriment leur gratitude à Mlle Suzanne

Akessa qui a dactylographié le manuscrit et à MM. Konan Konan et Labedai Dion pour leur précieuse collaboration au laboratoire et sur le terrain.

## Summary

### Evaluation of Testryp CATT applied to blood samples on filter-paper and on diluted blood in a focus of trypanosomiasis due to *Trypanosoma brucei gambiense* in Côte d'Ivoire

The Testryp CATT was performed on dried blood samples on filter-paper and on diluted blood using a microtechnique. This method was applied to both sample collection techniques and was evaluated in parallel with the classical Testryp CATT on whole blood, as described in the instructions provided with the reagents by the manufacturer. A total of 2087 people were tested; 453 samples were tested in the laboratory and 1634 during a field survey in 5 villages of a trypanosomiasis focus in Daloa, Côte d'Ivoire.

This study has demonstrated that the Testryp CATT micromethod on either type of sample collection gives results comparable to the Testryp CATT on whole blood. The collection of dried blood samples on filter-paper can be performed by non-specialized staff in trypanosomiasis control programmes of the national health services. In addition, a flask of CATT reagent will allow testing of 6 times more people by the micromethod than by the classical whole-blood method. The micromethod is suitable in the implementation of programmes for the serological surveillance of populations at risk.

## Bibliographie

1. Magnus, E. et al. A card agglutination test with stained trypanosomes (CATT) for serological diagnosis of *T.b. gambiense* trypanosomiasis. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, **58**: 169-176 (1978).
2. Zillman, U. & Albiez, E.J. The Testryp CATT (card agglutination test for trypanosomiasis): a field study on gambiense sleeping sickness in Liberia. *Trop. med. parasit.*, **37**: 390-392 (1986).
3. Bailey, N.M. et al. 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.*, **61** (5): 696-698 (1967).
4. Frézil, J.L. et al. Application et valeur de la technique d'immunofluorescence indirecte au dépistage et à la surveillance de la trypanosomiose à *T.b. gambiense*. *Cahiers ORSTOM, Ent. méd. et Parasitol.*, **12**: 111-126 (1974).
5. Magnus, E. et al. Use of freeze dried trypanosomes in the indirect fluorescent antibody test for serodiagnosis

- of sleeping sickness. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, **58**: 103–109 (1978).
6. **Organisation mondiale de la Santé. Manuel pour la lutte contre la trypanosomiase**, Edition expérimentale (1983), p. 91–92.
7. **Lumsden, W.H.R. et al. Trypanosoma brucei: miniature anion exchange centrifugation technique for detection of low parasitemias: adaptation for field use.** *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **73** (3): 312–317 (1979).