

# Comparaison de trois tests sérologiques pour le diagnostic de terrain du surra (trypanosomose à *Trypanosoma evansi*) chez le dromadaire au Tchad

A. Delafosse <sup>1\*</sup> A.A. Doutoum <sup>1</sup>

## Mots-clés

*Camelus dromedarius* - *Trypanosoma evansi* - Immunodiagnostic - Réaction d'agglutination - Chlorure mercurique - Tchad.

## Résumé

La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* est, dans de nombreux pays, une dominante pathologique des dromadaires, responsable de pertes économiques importantes. L'utilisation rationnelle des trypanocides est conditionnée par la réalisation des diagnostics sur le terrain. Trois techniques de diagnostic sérologique pouvant être utilisées sur le terrain ont été testées à partir de sérums positifs et négatifs (examen parasitologique) provenant du Tchad oriental : le Catt, le test au chlorure de mercure et le Suratex<sup>®</sup>. Quoique multifactoriel, l'effondrement de la valeur de l'hématocrite a été mesuré et utilisé comme indicateur pour améliorer la sensibilité des tests. En ce qui concerne le Catt, la meilleure sensibilité, 0,88, a été obtenue à l'aide de sérums non dilués en considérant les réactions douteuses comme positives ; toutefois, dans ce cas, la spécificité n'a plus été que de 55 p. 100. La meilleure spécificité, 0,93, a été mesurée, avec des sérums purs ou dilués, en retenant un résultat positif associé à un hématocrite inférieur ou égal à 25. Le meilleur couple sensibilité/spécificité (0,85/0,93) et les meilleures valeurs prédictives ont été obtenus avec des sérums non dilués en prenant comme critère de positivité un test positif associé à un hématocrite inférieur ou égal à 25. Avec le test au chlorure de mercure, la meilleure sensibilité, 0,94, a été obtenue en interprétant toute réaction de floculation, même très légère (douteuse), comme positive. La meilleure spécificité, 0,99, a été mesurée en ne retenant que les réactions franchement positives associées à un hématocrite inférieur ou égal à 25 ; toutefois, dans ce cas, la sensibilité n'a été que de 78 p. 100. Le meilleur couple sensibilité/spécificité (0,90/0,95) et les meilleures valeurs prédictives ont été obtenus en prenant comme critère de positivité un test positif ou douteux associé à un hématocrite inférieur ou égal à 25. Les améliorations apportées par l'interprétation simultanée des tests sérologiques et de la valeur de l'hématocrite sont restées conditionnées par l'absence ou la faible prévalence d'autres facteurs anémiant majeurs dans la population étudiée. Les valeurs des sensibilités et des spécificités obtenues avec le Suratex<sup>®</sup> dans les deux hypothèses testées (réactions douteuses interprétées comme positives ou comme négatives) ont été faibles ; elles ne permettent pas de recommander son utilisation. Dans le contexte épidémiologique étudié, le test au chlorure de mercure associé à la valeur de l'hématocrite a donné les meilleurs rapports sensibilité/spécificité et valeurs prédictives pour le coût le plus faible ; il est donc suggéré que l'utilisation de cette technique soit mise à profit sur le terrain. On notera cependant que la toxicité du réactif rend dangereuse son utilisation pour le diagnostic courant.

## ■ INTRODUCTION

La trypanosomose à *Trypanosoma evansi* ou surra est considérée comme l'une des principales maladies du dromadaire du fait de son impact sur la productivité des cheptels (6). En effet, elle entraîne aussi bien des pertes directes (mortalités, avortements) que des pertes indirectes (stérilité, agalaxie, incapacité au travail, perte de la valeur économique par amaigrissement) (6).

1. Laboratoire de Farcha, BP 433, N'djaména, Tchad

\* Auteur pour la correspondance

Tél. : +235 52 76 52 ; fax : +235 52 76 52 ; e-mail : delaf@intnet.td

Le surra se traduit, le plus souvent, par une maladie chronique difficile à diagnostiquer par un simple examen clinique (5, 12). Par ailleurs, le diagnostic différentiel avec les autres pathologies provoquant des cachexies (l'hémochose en particulier) est souvent délicat (12). Dès lors, diverses techniques sérologiques visant à mettre en évidence des anticorps ou des antigènes circulants ont été développées. Certaines de ces techniques peuvent être mises en œuvre sur le terrain et se révèlent donc particulièrement adaptées à la nature généralement extensive et nomade de l'élevage du dromadaire.

## ■ MATERIEL ET METHODES

### Origine des échantillons

Des échantillons ont été collectés dans le cadre d'une étude épidémiologique réalisée au Tchad oriental et portant sur 2 892 dromadaires répartis dans 138 cheptels. Les élevages étudiés ont été grossièrement regroupés en trois catégories en fonction des pratiques de déplacement des éleveurs : grands transhumants se rendant, en saison sèche, au sud du 13<sup>e</sup> parallèle ; moyens et petits transhumants, restant au nord du 13<sup>e</sup> parallèle en saison sèche ; sédentaires et semi-sédentaires (déplacements de faibles amplitudes autour du village) installés au nord du 14<sup>e</sup> parallèle.

Chaque animal a fait l'objet d'un prélèvement de sang sur tube sec et sur tube avec anticoagulant (Edta). Un diagnostic parasitologique a été effectué en adaptant la méthode développée par Murray et coll. (8) aux difficultés rencontrées sur le terrain (impossibilité de réaliser un examen à l'état frais). Des frottis du *buffy coat* (interface plasma-globules rouges obtenu après centrifugation à 20 000 tours par minute pendant 4 min) ont été réalisés puis colorés au May Grunwald Giemsa (kit de coloration rapide RAL 555). Chaque prélèvement a fait l'objet d'une double lecture au microscope (objectif 100 à immersion). L'hématocrite a été mesuré et les sérums ont été collectés à l'aide de pipettes stériles après rétraction du caillot.

Le lot positif a été constitué de 140 sérums provenant d'animaux positifs à l'examen parasitologique. Les formes observées ont été compatibles avec l'espèce *Trypanosoma evansi*. Quarante sérums ont fait l'objet d'un diagnostic par Pcr avec les amorces spécifiques de *T. brucei*, *T. evansi* (en cas de positivité avec *T. brucei*), *T. simiae* et *T. vivax*. La présence de *T. evansi* a ainsi pu être confirmée dans 28 échantillons, les autres espèces n'ayant pas été identifiées.

Le lot négatif a été constitué de 98 sérums provenant de quatre cheptels sédentaires installés dans une zone circonscrite située au nord du 14<sup>e</sup> parallèle. Le nombre de dromadaires testés dans chaque cheptel a été supérieur à 20 et tous les animaux ont été négatifs à l'examen parasitologique.

### Techniques sérologiques testées

#### Test d'agglutination rapide sur carte (Catt : card agglutination test for trypanosomosis)

L'antigène a été obtenu à partir d'un clone (VAT RoTat 1/2) dérivant d'une souche de *Trypanosoma evansi* isolée d'un buffle en 1982 en Indonésie (1). Ce test a cherché à mettre en évidence des anticorps (Ig M) dans le sérum ou le plasma des animaux infectés.

Les sérums ont été testés purs et à la dilution 1/4 (protocole recommandé par le fabricant). Une fois mélangés au réactif, ils ont été

agités pendant 5 min à l'aide d'un appareil rotatif du type ITMAS B2 fonctionnant à la vitesse de 60 rotations par minute. L'interprétation a été réalisée par une seule personne par comparaison avec des témoins positif et négatif et à l'aide d'une grille standardisée, fournie par le fabricant, différenciant les résultats très positifs, positifs, douteux et négatifs. Ce test a été disponible sous forme de prêt-à-monter mis au point par l'Université libre de Bruxelles et l'Institut de médecine tropicale d'Anvers. Les réactifs ont été conservés au froid entre +2 et +8 °C.

#### Test au chlorure de mercure

Selon la méthode de Bennett (2), il s'agit d'une réaction de floculation en tube utilisant une solution de chlorure de mercure 0,18 mM. C'est une méthode non spécifique qui vise à mettre en évidence une précipitation d'immunoglobulines (Ig M, principalement) dans le sérum ou le plasma des animaux infectés.

Une goutte de sérum (50 µl) a été déposée dans un millilitre de solution. Le mélange a été agité manuellement et la lecture a été faite après 15 min. L'interprétation a été réalisée par une seule personne en évaluant qualitativement l'intensité de la réaction de floculation, laquelle s'est traduite par l'apparition d'une couleur blanchâtre troublant la solution. Une réaction forte a été considérée comme très positive, une réaction moyenne comme positive, une réaction faible comme douteuse et une absence de réaction comme négative. La solution au chlorure de mercure a été stockée à température ambiante à l'abri de la lumière.

#### Suratex®

Dans ce test d'agglutination sur plaque, le réactif est constitué d'une suspension de billes de latex sensibilisées par un anticorps spécifique dirigé contre une protéine interne de *T. evansi* (9). Ce test vise donc à mettre en évidence des antigènes circulants dans le sérum ou le plasma des animaux infectés.

L'interprétation a été réalisée par une seule personne par comparaison avec des témoins positif et négatif fournis par le fabricant. Le test a été obtenu auprès du laboratoire Accupharma (New York, USA) sous forme de prêt-à-monter mis au point par Brentec Diagnostics (Nairobi, Kenya). Les réactifs ont été conservés au froid entre +4 et +8 °C.

### Valeurs intrinsèques des tests : sensibilité et spécificité

La sensibilité (Se) mesure l'aptitude d'un test à fournir une réponse positive chez un animal infecté. Elle correspond à la proportion des vrais positifs (VP) sur l'ensemble des infectés, soit les vrais positifs et les faux négatifs (FN). La spécificité (Sp) mesure l'aptitude d'un test à fournir une réponse négative chez un animal indemne. Elle correspond à la proportion des vrais négatifs (VN) sur l'ensemble des indemnes, soit les vrais négatifs et les faux positifs (FP).

Pour le Catt et le test au chlorure de mercure, les sensibilités et les spécificités ont été évaluées, d'une part, avec les résultats des tests uniquement et, d'autre part, en association avec l'hématocrite. Pour celui-ci, la valeur seuil retenue, 25 p. 100, correspondait au minimum physiologiquement accepté chez le dromadaire (5).

### Valeurs prédictives

La valeur prédictive d'un résultat positif (VPP) peut se définir comme la proportion des vrais positifs parmi l'ensemble des réponses positives fournies par un test de dépistage. Elle correspond à la proportion des vrais positifs sur l'ensemble des vrais et

des faux positifs. Elle varie avec les valeurs intrinsèques des tests et les prévalences des maladies recherchées. La VPP peut être calculée par la formule suivante :

$$VPP = Se \times \text{Prévalence (Pr)} / (Se \times \text{Pr} + (1 - Sp)(1 - \text{Pr}))$$

La valeur prédictive d'un résultat négatif (VPN) peut se définir comme la proportion des vrais négatifs parmi l'ensemble des réponses négatives fournies par un test de dépistage. Elle correspond à la proportion des vrais négatifs sur l'ensemble des vrais et des faux négatifs. Comme la VPP, elle varie avec les valeurs intrinsèques des tests et les prévalences des maladies recherchées. La VPN peut être calculée par la formule suivante :

$$VPN = Sp(1 - \text{Pr}) / Sp(1 - \text{Pr}) + (1 - Se)\text{Pr}$$

## ■ RESULTATS

### *Catt avec sérums non dilués*

La sensibilité du Catt mesurée ici a été de 0,87 (122/140) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,88 (123/140) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau I). La spécificité du Catt mesurée ici a été de 0,81 (79/98) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,55 (54/98) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau I).

Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un Catt positif associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont été respectivement de 0,85 (119/140) et 0,93 (91/98) (tableau II). Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un Catt positif ou douteux associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont été respectivement de 0,86 (120/140) et 0,76 (74/98) (tableau II).

### *Catt avec sérums dilués au quart*

La sensibilité du Catt mesurée ici a été de 0,74 (104/140) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,83 (116/140) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau III). La spécificité du Catt mesurée ici a été de 0,87 (85/98) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,78 (76/98) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau III).

Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un Catt positif associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont respectivement été de 0,72 (101/140) et 0,93 (91/98) (tableau IV). Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un Catt positif ou douteux associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont respectivement été de 0,81 (113/140) et 0,90 (88/98) (tableau IV).

### *Test au chlorure de mercure (ou test de Bennett)*

La sensibilité du test au chlorure de mercure a été de 0,79 (111/140) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,94 (131/140) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau V). La spécificité du test au chlorure de mercure a été de 0,94 (92/98) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,85 (83/98) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau V).

Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un test au chlorure de mercure positif associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont respectivement été de

0,78 (109/140) et 0,99 (97/98) (tableau VI). Lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un test au chlorure de mercure positif ou douteux associé à un hémocrite inférieur ou égal à 25, la sensibilité et la spécificité ont respectivement été de 0,90 (126/140) et 0,95 (93/98) (tableau VI).

**Tableau I**

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes selon le résultat du Catt (sérums non dilués)

Résultat	Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Très positif	109	9
Positif	13	10
Douteux	1	25
Négatif	17	54

**Tableau II**

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes en fonction des critères de positivité « Catt positif et hémocrite inférieur ou égal à 25 » et « Catt positif ou douteux et hémocrite inférieur ou égal à 25 »

		Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Catt positif et hémocrite ≤ 25	Oui	119	7
	Non	21	91
Catt positif ou douteux et hémocrite ≤ 25	Oui	120	24
	Non	20	74

**Tableau III**

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes selon le résultat du Catt (sérums dilués au quart)

Résultat	Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Très positif	59	6
Positif	45	7
Douteux	12	9
Négatif	24	76

Tableau IV

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes en fonction des critères de positivité « Catt positif et hématoците inférieur ou égal à 25 » et « Catt positif ou douteux et hématoците inférieur ou égal à 25 »

		Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Catt positif et hématoците ≤ 25	Oui	101	7
	Non	39	91
Catt positif ou douteux et hématoците ≤ 25	Oui	113	10
	Non	27	88

Tableau V

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes selon le résultat du test au chlorure de mercure

Résultat	Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Très positif	48	0
Positif	63	6
Douteux	20	9
Négatif	9	83

Tableau VI

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes en fonction des critères de positivité « test au chlorure de mercure positif et hématoците inférieur ou égal à 25 » et « test au chlorure de mercure positif ou douteux et hématoците inférieur ou égal à 25 »

		Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Test au chlorure de mercure positif et hématoците ≤ 25	Oui	109	1
	Non	31	97
Test au chlorure de mercure positif ou douteux et hématoците ≤ 25	Oui	126	5
	Non	14	93

### Suratex®

La sensibilité du Suratex® a été de 0,54 (76/140) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,68 (95/140) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau VII). La spécificité du Suratex® a été de 0,62 (59/98) lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives et de 0,42 (41/98) lorsqu'elles ont été considérées comme positives (tableau VII).

### Valeurs prédictives

Les valeurs prédictives n'ont été évaluées que pour le Catt et le test au chlorure de mercure pour quatre hypothèses de prévalences : 0,05, 0,10, 0,15 et 0,20.

### Test d'agglutination rapide sur carte

La dilution des sérums au quart a entraîné, globalement, une amélioration des valeurs prédictives positives et une baisse des valeurs prédictives négatives. Toutefois, le meilleur compromis VPP/VPN a été obtenu avec des échantillons non dilués lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un Catt positif associé à un hématoците inférieur ou égal à 25 (tableaux VIII et IX).

### Test au chlorure de mercure

Les valeurs prédictives positives les plus élevées ont été mesurées lorsque, comme critère de positivité, a été retenu un test au chlorure de mercure positif associé à un hématoците inférieur ou égal à 25 (tableau X). Les valeurs prédictives négatives les plus élevées ont été mesurées lorsque, comme critère de positivité, a été uniquement retenu un test au chlorure de mercure positif ou douteux (tableau X).

## DISCUSSION

Le lot positif a été constitué de sérums provenant d'animaux dont l'infection a été détectée à l'examen parasitologique après une centrifugation en tube capillaire. La sensibilité de ce test ne permettant de détecter que les animaux à parasitémies de l'ordre de 1 000 trypanosomes par millilitre (8), l'échantillon n'a pas pu être considéré comme représentatif de tous les animaux malades et particulièrement de ceux à faibles parasitémies (infections précoces et chroniques). L'espèce de trypanosomes en cause a été déterminée, dans la majorité des cas, après une observation au microscope. Des erreurs de diagnose ont pu intervenir en présence d'espèces de trypanosomes présentant une morphologie proche de celle de *T. evansi* (*T. brucei* en particulier). Une mauvaise conser-

Tableau VII

Distribution d'échantillons provenant d'animaux infectés et présumés indemnes selon le résultat du Suratex®

Résultat	Echantillons provenant d'animaux infectés (n = 140)	Echantillons provenant d'animaux supposés indemnes (n = 98)
Très positif	26	1
Positif	50	37
Douteux	19	18
Négatif	45	41

Tableau VIII

Valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) obtenus avec des échantillons non dilués

Prévalence de la trypanosomose	Critère de positivité retenu							
	Catt positif		Catt positif/douteux		Catt positif Hématocrite ≤ 25		Catt positif/douteux Hématocrite ≤ 25	
	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN
0,05	0,18	0,99	0,09	0,99	0,39	0,99	0,12	0,99
0,10	0,33	0,98	0,18	0,98	0,58	0,98	0,22	0,98
0,15	0,43	0,97	0,26	0,96	0,68	0,97	0,31	0,97
0,20	0,52	0,96	0,33	0,95	0,75	0,96	0,39	0,96

Tableau IX

Valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) obtenues avec des échantillons dilués au quart

Prévalence de la trypanosomose	Critère de positivité retenu							
	Catt positif		Catt positif/douteux		Catt positif Hématocrite ≤ 25		Catt positif/douteux Hématocrite ≤ 25	
	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN
0,05	0,24	0,98	0,16	0,99	0,35	0,98	0,30	0,99
0,10	0,37	0,97	0,29	0,97	0,53	0,97	0,47	0,98
0,15	0,48	0,95	0,39	0,95	0,64	0,95	0,59	0,96
0,20	0,57	0,93	0,47	0,94	0,72	0,93	0,67	0,95

Tableau X

Valeurs prédictives positives (VPP) et négatives (VPN) en fonction de la prévalence et du type de diagnostic retenu

Prévalence de la trypanosomose	Critère de positivité retenu							
	Benett positif		Benett positif/douteux		Benett positif Hématocrite ≤ 25		Benett positif/douteux Hématocrite ≤ 25	
	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN	VPP	VPN
0,05	0,41	0,99	0,23	1,00	0,80	0,99	0,49	0,99
0,10	0,59	0,98	0,39	0,99	0,90	0,98	0,67	0,99
0,15	0,70	0,96	0,51	0,99	0,93	0,96	0,76	0,98
0,20	0,77	0,95	0,59	0,98	0,95	0,95	0,82	0,97

vation de l'Adn dans le sérum pourrait permettre d'expliquer le cas des 12 échantillons positifs à l'examen parasitologique mais négatifs en Pcr.

Les critères qui ont permis de définir le lot négatif (zone circonscrite, cheptels sédentaires, test parasitologique négatif) ne permettent pas d'exclure totalement l'existence d'animaux infectés, ce qui entraînerait une sous-estimation de la spécificité des techniques utilisées. Le test des échantillons présumés indemnes avec une technique Elisa-indirecte pour les Ig G aurait pu permettre de confirmer le statut des échantillons de référence négatifs.

Le Catt est un test relativement peu coûteux, mais il n'a été disponible lors de l'étude que chez un seul fournisseur, ce qui peut entraîner des difficultés d'approvisionnement. Il est très simple d'emploi, mais il est préférable de disposer, en plus du petit matériel classique (micropipette, tubes pour la dilution des échantillons, porte-tubes, etc.), d'un agitateur électrique dont le fonctionnement sur le terrain peut être difficile. La conservation des réactifs nécessite une chaîne du froid. Les résultats sont facilement interprétables grâce à la mise à disposition par le fournisseur d'une grille de lecture standardisée.

Le test au chlorure de mercure est très peu coûteux. Une très faible quantité du réactif principal est suffisante dans la mesure où celui-ci s'utilise à une forte dilution. Si le chlorure de mercure n'est pas réputé dangereux pour l'environnement, il est cependant très toxique pour l'homme, en particulier par contact avec la peau, et sa manipulation doit être réalisée avec précaution (protection des mains, des yeux et du visage). La préparation de la solution peut être réalisée à l'avance au laboratoire et nécessite une balance de précision et de l'eau distillée. Le test est très simple à réaliser, ne nécessite pas de gros matériel et de chaîne du froid (caractéristique intéressante dans les conditions habituelles de l'élevage du dromadaire). Les résultats sont parfois assez délicats à interpréter pour les réactions faiblement positives. Bien que le chlorure de mercure soit utilisé à une forte dilution, l'élimination de la solution usagée doit permettre d'éviter tout risque de contamination humaine.

Le Suratex® est un test coûteux mais simple d'emploi. La conservation des réactifs nécessite de disposer d'un appareillage permettant d'assurer une chaîne du froid. Les résultats sont délicats à interpréter en l'absence de grille standardisée fournie par le fabricant.

La sensibilité du Catt calculée ici (74,5 p. 100) avec des sérums dilués au quart a été légèrement plus faible que celles obtenues par Dia et coll. sur 26 sérums provenant de dromadaires positifs à l'examen parasitologique (21 positifs au Catt, soit 81,0 p. 100) (4) et par Luckins et coll. sur 222 sérums de buffles infectés (173 positifs, soit 78,0 p. 100) (7). Elle a cependant été plus élevée que celle obtenue par Pathak et coll. à partir des sérums dilués au 1/8 de 108 dromadaires infectés, 78 échantillons (72,0 p. 100) ayant été trouvés positifs avec le Catt (10).

La spécificité du Catt mesurée ici avec des sérums dilués au quart (86,5 p. 100) a été comparable à celle mentionnée en Mauritanie par Dia et coll. (84,0 p. 100) (4) qui se sont basés sur les animaux négatifs à l'examen parasitologique pour effectuer leur calcul. Luckins et coll. évoquent de leur côté une spécificité de 100 p. 100 en travaillant sur 172 sérums de buffles provenant d'une région indemne de trypanosomes (7).

L'utilisation du Catt avec des sérums non dilués a permis d'améliorer notablement la sensibilité du test (87,0 p. 100) aux dépens de sa spécificité (80,5 p. 100). Le fait d'associer l'hématocrite au résultat du test a permis *a contrario* d'améliorer la spécificité, celle-ci étant passée à 93,0 p. 100 avec des sérums purs ou dilués au quart, mais a entraîné parallèlement une légère baisse de la sensibilité (72,0 p. 100 avec une dilution au quart et 85,0 p. 100 avec les sérums purs).

La prise en compte du facteur « hématocrite » parallèlement au résultat du Catt semble intéressante, le meilleur couple sensibilité/spécificité (0,85/0,93) ayant été obtenu avec des sérums non dilués en prenant comme critère de positivité un test positif associé à un hématocrite inférieur ou égal à 25. Elle permet d'améliorer significativement les valeurs prédictives positives du test sans altérer les valeurs prédictives négatives. On notera cependant que de nombreux facteurs sont impliqués dans les variations de l'hématocrite (5, 6). Les résultats obtenus avec cet indicateur ne sont donc représentatifs que de la population étudiée.

La sensibilité du test au chlorure de mercure est passée de 79,5 à 93,5 p. 100 lorsque toute réaction de floculation, même de faible intensité, a été considérée comme positive. Dès lors, la sensibilité du test calculée ici a été plus élevée que celle obtenue en Inde à partir d'une solution légèrement plus diluée. Raisinghani et Swarnkar, travaillant sur 54 sérums de dromadaires positifs à l'examen parasitologique (dont 30 après une centrifugation en tube capillaire et 51 après inoculation à la souris), ont obtenu une sensibilité de 81,5 p. 100 (11). Pathak et coll., travaillant sur 108 sérums de dro-

madares positifs à l'examen parasitologique (dont 49 après un examen direct et 94 après inoculation à la souris), ont obtenu une sensibilité de 72,0 p. 100 (10). Ces différences pourraient s'expliquer par la nature du lot positif. En effet, il est possible que dans les cas d'infections récentes ou chroniques, caractérisées par de faibles réponses en Ig M, la sensibilité de la réaction au chlorure de mercure soit plus faible. Ainsi dans le travail de Pathak et coll., la sensibilité du test passe de 72,0 à 64,5 p. 100 lorsque l'on ne prend en compte que les 59 animaux négatifs après un examen sanguin direct mais positifs après une inoculation à la souris (10). Par ailleurs, divers auteurs ayant utilisé cette méthode au début du siècle ont signalé un défaut de sensibilité chez les animaux récemment infectés (3). Le fait d'associer l'hématocrite au résultat du test entraîne une faible baisse de la sensibilité, que l'on considère les réactions douteuses comme positives ou négatives.

La spécificité du test au chlorure de mercure calculée ici est passée de 84,5 à 94,0 p. 100 lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme négatives. Un défaut de spécificité, non mesuré ici, peut intervenir en présence d'autres espèces de trypanosomes. En effet, Bennett a montré que sa réaction réussit également avec les sérums de dromadaires infectés par *T. vivax* et *T. brucei* (3). Les performances du test pourraient également être altérées par la présence d'autres agents pathogènes pouvant induire le même type de réaction immunitaire. Le fait d'associer l'hématocrite au résultat du test permet d'améliorer la spécificité, celle-ci passant à 95,0 p. 100 (réactions douteuses interprétées comme positives) et à 99,0 p. 100 (réactions douteuses interprétées comme négatives). Le meilleur couple sensibilité/spécificité (0,90/0,95) a été obtenu en prenant comme critère de positivité un test positif ou douteux associé à un hématocrite inférieur ou égal à 25.

La sensibilité du Suratex® calculée ici a été de 54,5 p. 100 et est passée à 68,0 p. 100 lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme positives. Ces valeurs sont beaucoup plus faibles que celles citées par Nantulya qui évoque une sensibilité de 94,0 p. 100 sur 32 sérums provenant de dromadaires positifs après une centrifugation en tube capillaire et de 100 p. 100 sur des sérums provenant de 28 dromadaires positifs après une inoculation à la souris (9). De même, la spécificité du Suratex® calculée ici a été de 62,0 p. 100 et elle est passée à 42,0 p. 100 lorsque les réactions douteuses ont été considérées comme positives. Ces valeurs sont encore une fois beaucoup plus faibles que celle évoquée par Nantulya, celui-ci ayant calculé une spécificité de 100 p. 100 à partir de 30 sérums provenant d'animaux indemnes (9).

Les tests présentant des valeurs prédictives positives élevées sont intéressants dans une logique d'économie lorsque l'on cherche à maximiser l'efficacité des traitements effectués. Dans cette hypothèse, on pourra recommander l'utilisation du test au chlorure de mercure en ne retenant que les réactions franchement positives et en l'associant à un relevé de l'hématocrite. Avec ce protocole, le pourcentage d'animaux réellement infectés parmi les positifs varie de 80,0 p. 100 pour une prévalence de 5,0 p. 100 à 95,0 p. 100 pour une prévalence de 20,0 p. 100. *A contrario*, des valeurs prédictives négatives élevées sont intéressantes pour s'assurer du statut indemne d'un animal (individus de grande valeur économique, par exemple). Dans cette hypothèse, on pourra recommander l'utilisation du test au chlorure de mercure en retenant les réactions positives ou douteuses. Avec ce protocole, le pourcentage d'animaux réellement indemnes parmi les négatifs varie de 100 p. 100 pour une prévalence de 5,0 p. 100 à 98,0 p. 100 pour une prévalence de 20,0 p. 100. On notera cependant que, malgré les avantages du test au mercure de chlorure, la toxicité du réactif rend dangereuse son utilisation dans un test de diagnostic courant.

## Remerciements

Les analyses par Pcr ont été réalisées par l'unité d'Epidémiologie du Centre international de recherches-développement sur l'élevage en zone subhumide (Cirdes) à Bobo Dioulasso (Burkina Faso).

## BIBLIOGRAPHIE

1. BAIYANA SONGO E., HAMERS H., 1988. A card agglutination test (CATT) for veterinary use based on an early VAT RoTat 1/2 of *T. evansi*. *Ann. Soc. trop. Med. Hyg.*, **86**: 630.
2. BENNETT S.C.G., 1929. The mercuric chloride test for camel trypanosomiasis. *J. comp. Pathol.*, **42**: 118-126.
3. CURASSON G., 1943. Diagnostic des trypanosomoses. In : Vigot frères éd., Traité de protozoologie vétérinaire et comparée, Tome 1, Trypanosomoses. Mesnil, France, Firmin-Didot, p. 43-54.
4. DIA M.L., VAN MEIRVENNE N., MAGNUS E., LUCKINS A.G., DIOP C., THIAM A., JACQUIET P., HAMERS R., 1997. Evaluation de quatre tests de diagnostic : frottis sanguins, Catt, IFI et Elisa-Ag dans l'étude de l'épidémiologie de la trypanosomose cameline à *Trypanosoma evansi* en Mauritanie. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, **50** : 29-36.
5. DIOLI M., STIMMELMAYR R., 1992. Important camel diseases. In: Dioli M., Scharzt H.J., eds., The one-humped camel (*Camelus dromedarius*) in eastern Africa: A pictorial guide to diseases, health care and management. Weikersheim, Germany, Margraf Press, p. 155-223.

6. FAYE B., 1997. Les maladies du dromadaire. In : Sanofi éd., Guide de l'élevage du dromadaire. Montrouge, France, Agir, p. 89-123.
7. LUCKINS A.G., BUSCHER P., VERLOO D., MAGNUS E., HUSEIN A., SOLIHAT L., 1999. Evaluation of serological tests for the detection of infections with *Trypanosoma evansi* in Buffalo. In: Progress Report of 20th Meeting of the OIE Ad Hoc Group on Non-Tsetse Transmitted Trypanosomoses, Paris, France, 17-21 May 1999. Paris, France, OIE/NTTAT, p. 101.
8. MURRAY M., MURRAY P.K., MCINTYRE W.I.M., 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg.*, **71**: 325-326.
9. NANTULYA V.M., 1994. Suratex®: a simple latex agglutination antigen test for diagnosis of *Trypanosoma evansi* infections (surra). *Trop. Med. Parasitol.*, **45**: 9-12.
10. PATHAK K.M., SINGH Y., VAN MEIRVENNE N., KAPOOR M., 1997. Evaluation of various diagnostic techniques for *Trypanosoma evansi* infections in naturally infected camels. *Vet. Parasitol.*, **69**.
11. RAISINGHANI P.M., SWARNKAR C.P., 1992. Efficacy of diagnostic tests in surra. In : Premier séminaire international sur les trypanosomoses animales non transmises par les glossines, Annecy, France, 14-16 octobre 1992. Lyon, France, Fondation Marcel Mérieux, p. 50.
12. RICHARD D., 1986. Les maladies d'origine parasitaire. In : République du Niger/lemvt éd., Manuel des maladies du dromadaire. Maisons-Alfort, France, lemvt, p. 9-51.

Reçu le 16.03.2000, accepté le 03.05.2001

## Summary

**Delafosse A., Doutoum A.A.** Comparison of three serological tests for field diagnosis of camel surra (*Trypanosoma evansi* infection) in Chad

In many countries, one of the major diseases in camels is the *Trypanosoma evansi* infection, which is responsible for important economic losses. Field diagnosis is necessary for a rational use of trypanocides. Three field serological diagnostic techniques applicable in the field were tested with positive and negative (parasitological test) sera from eastern Chad: CATT, mercuric chloride test and Suratex®. The collapse of PCV though multifactorial was measured and used as an indicator to increase test sensitivity. The highest sensitivity of CATT (0.88) was obtained with non-diluted sera, doubtful reactions being considered as positive; In this case, however, specificity was as low as 55%. The highest specificity (0.93) was measured with pure or diluted sera, positive results being associated with a PCV less than or equal to 25. The highest combined values of sensitivity/specificity (0.85/0.93) and the highest predictive values were obtained with non-diluted sera, the positive criterion being a positive test associated with PCV less than or equal to 25. With the mercuric chloride test, the highest sensitivity (0.94) was obtained when any flocculation, even very light ones, were considered positive. The highest specificity (0.99) was measured by keeping only very positive reactions associated with PCV less than or equal to 25; In this case, however, sensitivity was only 78%. The highest combined values of sensitivity/specificity (0.90/0.95) and the best predictive values were obtained with the positive criterion being a positive or doubtful test associated with PCV less than or equal to 25. The improvements due to simultaneous interpretation of serological tests and PCV value

## Resumen

**Delafosse A., Doutoum A.A.** Comparación de tres pruebas serológicas para el diagnóstico de campo de la « surra » (trypanosomosis por *Trypanosoma evansi*) en el dromedario en Chad

En muchos países, la tripanosomosis por *Trypanosoma evansi* es dominante patológicamente en los dromedarios y responsable de pérdidas económicas importantes. El uso racional de los tripanocidas esta condicionado por la obtención de diagnósticos de campo. Se probaron tres técnicas de diagnóstico serológico, las cuales pueden ser utilizadas en el campo, a partir de sueros positivos y negativos (examen parasitológico) provenientes de Chad oriental: el Catt, prueba con cloruro de mercurio y Suratex®. Aunque la caída del valor del hematocrito sea multifactorial, éste se midió y utilizó como indicador para mejorar la sensibilidad de las pruebas. En lo que concierne al Catt, la mejor sensibilidad, 0,88, se obtuvo gracias a sueros no diluidos, considerando las reacciones dudosas como positivas; sin embargo, en este caso, la especificidad fue únicamente de 55%. La mejor especificidad, 0,93, se midió, con sueros puros o diluidos, reteniendo un resultado positivo asociado a un hematocrito inferior o igual a 25. La mejor pareja sensibilidad/especificidad (0,85/0,93) y los mejores valores de predicción fueron obtenidos con sueros no diluidos, tomando como criterio positivo una prueba positiva asociada a un hematocrito inferior o igual a 25. Con el test del cloruro de mercurio, la mejor sensibilidad, 0,94, se obtuvo interpretando toda reacción de floculos, mismo ligera (dudosa), como positiva. La mejor especificidad, 0,99, se midió reteniendo únicamente las reacciones francamente positivas asociadas a un hematocrito inferior o igual a 25; sin

*Field diagnosis of surra in the camel*

were still dependent on the absence or low prevalence of other major factors of anemia in the studied population. Sensitivity and specificity of Suratex<sup>®</sup> test in both tested hypotheses (doubtful reactions considered as positive or negative) were low and did not allow recommending its use. In the studied epidemiological context, the mercuric chloride test associated with PCV gave the highest sensitivity/specificity rates and predictive values at the lowest cost. It is therefore proposed that this technique be used in the field, but it must be stressed that mercuric chloride is toxic and could be dangerous as a diagnosis test.

**Key words:** *Camelus dromedarius* - *Trypanosoma evansi* - Immunodiagnosis - Agglutination test - Mercuric chloride - Chad.

embargo, en este caso, la sensibilidad fue solo de 78%. El mejor par sensibilidad / especificidad (0,90/0,95) y los mejores valores de predicción se obtuvieron tomando como criterio positivo toda prueba positiva o dudosa asociada a un hematocrito inferior o igual a 25. Las mejoras aportadas por la interpretación simultánea de los tests serológicos y del valor del hematocrito permanecieron condicionadas por la ausencia o la baja prevalencia de otros factores importantes, causantes de anemia en la población estudiada. Los valores de las sensibilidades y de las especificidades obtenidos con el Suratex<sup>®</sup> en las dos hipótesis examinadas (reacciones dudosas interpretadas como positivas o como negativas) fueron bajos; por lo que no permiten recomendar o no su uso. En el contexto epidemiológico estudiado, el test con cloruro de mercurio asociado al valor del hematocrito ofreció las mejores relaciones sensibilidad / sensibilidad y los valores de predicción con un costo mas bajo. Se sugiere entonces que el uso de esta técnica sea puesta en uso en el campo. Se indica, sin embargo, que la toxicidad del reactivo torna peligroso su uso para el diagnóstico frecuente.

**Palabras clave:** *Camelus dromedarius* - *Trypanosoma evansi* - Inmunodiagnostico - Reacción de aglutinación - Cloruro mercurico - Chad.