



Titre de thèse : Marqueurs de prise en charge et de suivi de la THA

Financement : sous réserve AAPNA

Nom de l'équipe et du directeur : UMR-S1094 NET - Pr Pierre-Marie PREUX

Encadrants : Thèse en co-direction Dr B. COURTIOUX (UMR INSERM 1094 – Limoges) & Dr P TRUC (UMR INTERTRYP IRD-Cirad - Montpellier)

Contacts : bertrand.courtioux@unilim.fr / Philippe.Truc@ird.fr

Mots clés : Trypanosome - Biomarkers - Patient Monitoring

Profil et compétences recherchées : L'étudiant(e) devra avoir de solides compétences en techniques biologiques (ELISA, western blot, PCR, RT-PCR...) mais aussi des connaissances en physiopathologies des maladies infectieuses. Le(La) candidat(e) sera en charge d'une bio-banque d'échantillon et devra en maîtriser l'organisation.

Description de la problématique de recherche : La maladie du sommeil ou trypanosomose humaine africaine (THA) est une infection parasitaire vectorisée par la mouche Tsé-Tsé est localisée uniquement sur le continent africain. L'agent infectieux est un protozoaire flagellé sanguicol appartenant à deux sous-espèces : *Trypanosoma brucei gambiense* (présent en Afrique de l'Ouest et Centrale) et *Trypanosoma brucei rhodesiense* (présent en Afrique de l'Est). Cette infection touche majoritairement les régions rurales et les plus pauvres du continent africain. La maladie débute lors du repas sanguin de la mouche Tsé-Tsé qui va inoculer le parasite à l'Homme. Ce parasite va se multiplier dans un premier temps dans le sang et la lymphe du patient. Ce stade de multiplication hémolympatique (ou stade 1 de la maladie) passe souvent inaperçu en raison de l'absence de signe clinique spécifique. A ce stade des traitements existent et sont peu toxiques. Si le diagnostic est trop tardif car la maladie continue d'évoluer, le parasite finit par envahir le système nerveux central. Ce stade neurologique de la maladie (ou stade 2) est caractérisé par l'apparition progressive de signes cliniques (nerveux et psychiatriques) dont le plus connu est la perturbation du cycle veille sommeil qui a donné son nom à la maladie. Pour le stade 2, ils existent également des traitements mais plus contraignants et toxiques pour le patient que ceux administrés au cours du stade 1. Le diagnostic et le suivi des patients est complexe, et se base sur des examens de laboratoire, qu'il faut imaginer loin de toute structure sanitaire.

Thématiques Domaine Contexte : Parasitologie – biostatistiques – Santé Publique

Objectifs : L'objectif général de ce projet est de répondre aux interrogations sur la physiopathologie de la trypanosomose humaine africaine afin d'apporter des améliorations aux méthodes de diagnostics et de suivies actuellement en cours pour ses patients : **Existe-t-il des marqueurs biologiques du stade d'évolution de la THA ?** A l'heure actuelle seule la découverte du parasite dans le liquide céphalo-rachidien des patients et / ou la cytorachie permettent de déterminer le stade de cette maladie, or loin de toute structure sanitaire ces examens sont relativement fastidieux à mettre en place. Et même si de nouvelles molécules pour la prise en charge des patients vont apparaître, le diagnostic reste un enjeu

important. **Existe-t-il des marqueurs biologiques permettant de confirmer une rémission de la maladie à court et moyen terme ?** Actuellement seule, une ponction lombaire réalisée à distance du traitement permet de renseigner le clinicien sur la réussite du traitement mis en place. Là encore le choix de réaliser une ponction lombaire reste un acte contraignant pour le patient mais aussi pour les équipes en charge du suivi des patients. De nouvelles alternatives doivent être identifiées.

L'évaluation neuropsychiatrique de ces patients est-il un outil pertinent dans le diagnostic et le suivi des patients ? De nombreux signes et symptômes neuropsychiatriques sont connus dans le cadre de l'évolution de la maladie du sommeil. En revanche l'interprétation de ces aspects psychiatriques ont été très peu exploités dans le diagnostic et le suivi de cette maladie. Le travail d'interprétation et d'analyses de données neuropsychiatrique comme avec le MINI pourrait là aussi apporter une aide décisionnelle aux cliniciens confrontés à ces patients.

Méthode : Actuellement, il devient très difficile d'accéder aux malades sur le terrain, en raison de leur faible nombre dans les régions politiquement stables, ou de leurs inaccessibilités dans les régions instables militairement. Mais entre 2008 et 2011 sous l'égide de FIND (Foundation for Innovative New Diagnostics), une campagne de prospections de patients atteints de THA a été mise en place en Angola avec pour objectif de collectionner des échantillons de fluides biologiques de patients en stade I et en stade II de la maladie, afin d'utiliser ces échantillons dans des travaux permettant d'améliorer le diagnostic et le suivi. Ainsi 228 patients ont été recrutés (71 en stade I et 165 en stade II de la maladie) et 19 contrôles. Pour chaque patient nous avons à disposition et stocké à -80°C, urines, plasma, LCR, salives, larmes qui ont été recueillis à l'inclusion mais aussi à 6, 12, 18 et 24 mois post traitement ainsi qu'un dossier clinique, neuropsychiatrique complet. Ces échantillons ont été recueillis et transportés dans des contions optimales. C'est cette bio banque qui permettra la réalisation de ce projet. Il sera ainsi possible de travailler sur une pathologie à moindre coût sans avoir à réaliser de mission de terrain dans des conditions sécuritaires parfois difficiles.

Résultat attendu : Ce travail a pour objectif d'améliorer de façon global la détection et la prise en charge des patients africains atteints de THA. A cours terme l'objectif est de développer de nouveaux tests à la fois pour le diagnostic de la maladie mais aussi pour le suivi. L'idéal étant de se passer de la contraignante ponction lombaire qui à l'heure actuelle est le seul acte qui permet de déterminer le stade de la maladie, de mettre en place le traitement adapté mais aussi d'assurer le suivi du patient. Ces travaux pourraient ainsi permettre le développement de TDR (Test Rapide de Diagnostic) facilitant l'éradication de la maladie.

Références bibliographiques :

- Truc P, Lando A, Penchenier L, Vatunga G, Josenando T, 2012. Human African trypanosomiasis in Angola: clinical observations, treatment, and use of PCR for stage determination of early stage of the disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*: 106: 10-4. ISSN 0035-9203
- Vincent IM, Daly R, Courtioux B, Cattanach AM, Biéler S, Ndung'u JM, Bisser S, Barrett MP, 2016. Metabolomics Identifies Multiple Candidate Biomarkers to Diagnose and Stage Human African Trypanosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 10(12), e0005140. 2016.



Title of subject: *THA markers and patients monitoring*

Financing : subject to AAPNA

Name of the team and the director: UMR-S1094 NET - Pr Pierre-Marie PREUX

Name of the supervisor: Co-direction Dr B Courtioux (UMR INSERM 1094 – Limoges) & Dr P Truc (UMR INTERTRYP IRD-Cirad - Montpellier) bertrand.courtioux@unilim.fr / Philippe.Truc@ird.fr

Keywords: Trypanosomiasis - Biomarkers - Patient Monitoring

Profile and skills: The student must have competence on biological techniques (ELISA, western blot, PCR, RT-PCR ...) but also knowledge in pathophysiology of infectious diseases. The candidate will be in charge of a bio-sample bank and will have to manage its organization.

Description of the research project: Sleeping sickness or African human trypanosomiasis (THA) is a vector-borne parasite infection due to Tse-Tse fly, the disease is only found on the African continent. The infectious agent is a protozoan flagellate sanguicol belonging to two subspecies: *Trypanosoma brucei gambiense* (West and Central Africa) and *Trypanosoma brucei rhodesiense* (East Africa). This infection mainly affects the rural and poorest parts of the African continent. The disease begins during the blood meal of the Tse-Tse fly which will inoculate the parasite to humans. This parasite will multiply initially in the blood and lymph of the patient. This stage of hemo-lymphatic multiplication (stage 1 of the disease) often goes unnoticed due to the absence of specific clinical sign. At this stage, treatments exist and are not very toxic. If the diagnosis is too late, the disease continues to evolve, the parasite eventually invades the central nervous system. This neurological stage of the disease (stage 2) is characterized by the progressive development of clinical signs (nervous and psychiatric) such as disturbance of the sleep cycle that gave its name to the disease. For Stage 2 there are also treatments that are more restrictive and toxic for the patient than those administered during Stage 1. Diagnosis and follow-up of patients are complex due to sanitary structure not adapted in rural countries.

Area/Context: Parasitology - biostatistics - Public health

Objectives: The general objective of this project is to answer questions about the pathophysiology of Human African Trypanosomiasis in order to improve the methods used for the patient's diagnosis and follow-up: Are there biological markers for stage evaluation of HAT? At present, only the identification of the parasite in the cerebrospinal fluid of the patients and / or the CSF cell count make it possible to determine the stage of this disease, and in the local context these medical/biological-exams are relatively tiresome to put in place. And even if new molecules for the management of the patients will appear, the diagnosis remains an important stake. Are there biological markers to confirm remission of the disease in the short to medium term? At present, only a lumbar puncture performed at distance from the treatment makes it possible to inform the clinician on the success of the treatment put in place. Again, the choice of performing a lumbar puncture remains a binding act for the patient but also for the teams in charge of patient follow-up. New alternatives need to be identified. Is the neuropsychiatric assessment of these patients a relevant tool in the diagnosis and follow-up of

patients? Many neuropsychiatric signs and symptoms are known as part of the evolution of sleeping sickness. On the other hand, the interpretation of these psychiatric aspects has been poorly exploited in the diagnosis and follow-up of this disease. The work of interpreting and analyzing neuropsychiatric data as with the MINI could also provide decision-making assistance to clinicians confronted with these patients.

Methods: Actually, it's very difficult to find patients on the ground, because of their low number in politically stable areas, or their inaccessibility in militarily unstable areas. But between 2008 and 2011, with FIND organization (Foundation for Innovative New Diagnostics), a campaign of prospective HAT patients was made in Angola with the objective of collecting samples of biological fluids from stage I and stage II patients, in order to use these samples in work to improve diagnosis and follow-up. Thus 228 patients were recruited (71 in stage I and 165 in stage II of the disease) and 19 controls. For each patient, we have and stored at -80°C , urine, plasma, CSF, saliva, tears that were collected at inclusion but also at 6, 12, 18 and 24 months' post treatment as well as a Clinical file, complete neuropsychiatric diagnosis. These samples were collected and transported in optimal conditions. This bio-bank will authorize progress in the comprehension of the disease. It will thus be possible to work on a pathology at a lower cost without having to carry out a field mission in sometimes difficult security conditions.

Expected results: This work aims to improve the overall detection and management of African patients with HAT. In the short term, the objective is to develop new tests both for the diagnosis of the disease and for follow-up. The ideal is to dispense with the compulsory lumbar puncture which at the moment is the only act that allows to determine the stage of the disease, to set up the adapted treatment but also to follow up the patient. This work could thus enable the development of TDR (Rapid Diagnostic Test) facilitating the eradication of the disease.

Bibliographical references:

- Truc P, Lando A, Penchenier L, Vatunga G, Josenando T, 2012. Human African trypanosomiasis in Angola: clinical observations, treatment, and use of PCR for stage determination of early stage of the disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*: 106: 10-4. ISSN 0035-9203
- Vincent IM, Daly R, Courtioux B, Cattanach AM, Biéler S, Ndung'u JM, Bisser S, Barrett MP, 2016. Metabolomics Identifies Multiple Candidate Biomarkers to Diagnose and Stage Human African Trypanosomiasis. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 10(12), e0005140. 2016.