

Dépistage de masse de la Bilharziose à *Schistosoma mansoni*. Étude de la fiabilité de deux techniques : parasitologique (MIF) et immunologique (ELISA)⁽¹⁾

Christian BOUDIN⁽²⁾

J. CHAIZE⁽³⁾

Résumé

Au sein des pays de l'O.C.C.G.E., le dépistage de masse de la schistosomiase mansonienne s'effectue à l'aide d'une technique parasitologique classique : le MIF. Ce test, bien que spécifique, s'est avéré peu sensible, ne dépistant que 60 % des sujets infectés. D'autre part il nécessite le déplacement sur le terrain d'équipes mobiles importantes et coûteuses et l'exploitation des prélèvements nécessite du temps et beaucoup de travail au laboratoire central.

Pour pallier ces inconvénients, les auteurs ont essayé d'adapter l'ELISA au dépistage de masse de la schistosomiase mansonienne. La technique est effectuée à partir de micro-prélèvements de sang séché sur confetti. Ces prélèvements peuvent être réalisés par les formations sanitaires locales et envoyés par la poste au laboratoire central.

Mais l'efficacité du test immunologique est médiocre. Il ne permet de dépister que 80 % des sujets bilharziens et donne 20 % de faux positifs. Deux hypothèses peuvent expliquer ce manque d'efficacité :

- l'utilisation de confettis plus ou moins bien conservés,
- et la possibilité de réactions croisées avec un certain nombre d'autres helminthiases endémiques en Afrique de l'Ouest (filarioses, anguillulose, cysticercose et peut être ankylostomose).

Les auteurs espèrent améliorer l'efficacité du test en utilisant une fraction antigénique spécifique de *S. mansoni*.

Mots-clés : Bilharziose — *Schistosoma mansoni* — Dépistage de masse — MIF — ELISA — Haute Volta.

Summary

MASS SCREENING OF MANSONI SCHISTOSOMIASIS. STUDY OF RELIABILITY OF BOTH PARASITOLOGICAL (MIF) AND IMMUNOLOGICAL (ELISA) TECHNIQUES.

In O.C.C.G.E. countries, mass screening for *Schistosoma mansoni* is performed with the classical stool sedimentation and MIF staining method. We performed 4 series of examinations on 193 people in an endemic area. Though specific, the classical method is insensitive ; only about 60 % of infections are detected by a single test. Other disadvantages of this method are the use of a large and expensive mobile team to collect specimens, and the excessive processing time at the central laboratory.

To avoid these problems, the authors have compared the traditional method with an ELISA test using a *S. mansoni* antigen. This test can be done on small serum samples from filter paper blood spots. These filter

(1) Ce travail a été effectué dans le cadre des accords conclus entre l'O.R.S.T.O.M. et l'O.C.C.G.E.

(2) Parasitologiste O.R.S.T.O.M., Centre Muraz, B.P. 153, Bobo-Dioulasso, RHV.

(3) Technicien Supérieur O.C.C.G.E., Centre Muraz.

paper samples could be obtained by local health personnel and sent by mail to a central laboratory. However the discrimination of the ELISA test used is mediocre. Only 80 % of the infected patients were positive and 20 % of non-infected individuals from a schistosome-free village gave false positive results. These mediocre results may be due to :

- poorly conserved filter paper samples, or
- cross-reactions with other parasitic infections endemic in West Africa (filariasis, cysticercosis, strongyloidosis and perhaps ancylostomiasis).

We hope to improve the effectiveness of the ELISA method by using a more specific antigen fraction of *S. mansoni*.

Keys words : Schistosomiasis — *Schistosoma mansoni* — Mass screening — MIF — ELISA — Upper Volta.

INTRODUCTION

Toute technique diagnostique utilisée en dépistage de masse dans les schistosomiasis doit obéir à un certain nombre d'impératifs :

- elle doit être sensible et spécifique,
- applicable aux grandes séries,
- de manipulation simple et rapide, pouvant donner des résultats immédiatement sur le terrain,
- économique,
- enfin elle doit rendre compte de l'intensité de l'infection et du stade évolutif de la maladie.

Il n'existe pas de test diagnostique répondant à tous ces impératifs. Au Centre Muraz, nous utilisons deux techniques : l'une parasitologique et l'autre immunologique, qui ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. L'examen parasitologique est une technique de concentration diphasique par le MIF effectuée sur fragment calibré de selles. Ce test est applicable aux grandes séries, il affirme l'évolution de la parasitose, et permet une estime de la charge parasitaire. Mais il nécessite le déplacement sur le terrain d'une équipe importante, il ne peut donner des résultats immédiats et est mal toléré sur le plan psychologique par certaines populations.

La technique sérologique est l'Enzyme-Linked-Immunesorbent-Assay (ELISA), effectuée à partir d'un micro-prélèvement de sang séché sur confetti. Elle est applicable aux grandes séries, elle est bien tolérée, de manipulation simple et économique. Mais elle ne reflète pas la charge parasitaire ni le stade évolutif de la maladie.

Nous avons voulu tester la valeur diagnostique de ces deux méthodes de dépistage.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude de l'efficacité d'une technique diagnostique, nécessite au préalable, un classement de référence en deux groupes : les « malades » et les « sujets sains ». En zone d'endémie, il est souvent difficile de départager ces deux groupes de population. Nous avons tenté de résoudre ce problème en choisissant deux villages : l'un méso-endémique en bilharziose intestinale à *Schistosoma mansoni* et l'autre indemne de toute bilharziose du fait de l'absence de mollusques hôtes intermédiaires.

Tous les sujets de cette étude ont subi :

- 4 examens parasitologiques des selles,
- 1 examen parasitologique des urines,
- 1 prélèvement sanguin au bout du doigt sur confetti.

Nous avons considéré comme sujet bilharzien, tout individu présentant des œufs de *S. mansoni* à un au moins des 4 examens parasitologiques des selles. Ont été retenus comme sujets sains, tous les enfants du village indemne de bilharziose, n'ayant jamais quitté ce village.

Nous avons utilisé comme techniques diagnostiques :

- la méthode de concentration diphasique par le MIF de Sapero et Lawless (1953),
- la méthode de filtration de 10 ml d'urines de Plouvier *et al.* (1975),
- et la méthode ELISA, pour le dépistage des anticorps spécifiques, de Engvall et Perlman (1972). Le sérum est obtenu après 12 heures d'éluion des confettis en tampon PBS + tween et utilisé à la dilution 1/125. La technique ELISA est pratiquée sur plaques à microtitration en polystyrène, avec un antigène somatique total de *S. mansoni* adulte (Biguet *et al.*, 1965), à la concen-

tration de 5 microgrammes/ml. Les antiglobulines humaines utilisées sont marquées à la peroxydase et diluées au 1/2000. L'agent révélateur est l'orthodiansidine. Les résultats sont lus au spectrophotomètre de Jan et Constant à 405 nm.

La valeur diagnostique, ou efficacité d'un examen biologique dépend de sa possibilité de trier correctement les malades des sujets sains, grâce à la conjonction d'une bonne sensibilité (peu de malades faussement négatifs) et d'une bonne spécificité (peu de sujets sains faussement positifs).

Nous avons étudié l'efficacité des deux techniques de dépistage en comparant leur valeur respective dans les deux groupes de populations : les sujets bilharziens et les témoins négatifs.

2. RÉSULTATS ET OBSERVATIONS

2.1. Valeur diagnostique de l'examen parasitologique

Nous avons étudié l'efficacité du diagnostic parasitologique au sein de la population totale et au sein des différentes tranches d'âge.

2.1.1. VALEUR DIAGNOSTIQUE DE L'EXAMEN PARASITOLOGIQUE DANS LA POPULATION TOTALE

4 examens de selles à une semaine d'intervalle ont été effectués chez la plupart des sujets dans le village bilharzien. Les résultats sont les suivants :

— 1 ^{er} passage : 83 + / 193 ex :	prévalence 43 %
— 2 ^e passage : 75 + / 198 ex :	— 37,9 %
— 3 ^e passage : 77 + / 193 ex :	— 39,9 %
— 4 ^e passage : 71 + / 194 ex :	— 36,6 %

Un seul examen parasitologique dépiste en moyenne 39,3 % des sujets bilharziens. Avec 4 examens de selles, la prévalence parasitologique est de 65,6 %. En dépistage de masse on ne peut répéter les prélèvements sur le terrain. Il est donc important de connaître la sensibilité de notre dépistage unique. Cette sensibilité peut-être appréciée par le rapport du nombre de dépistés à un seul examen, sur le nombre total de positifs et multiplié par 100. Un seul examen de selles ne permet donc de dépister en moyenne que 60 % des sujets infectés. La sensibilité de notre technique parasitologique est de 60 % et sa spécificité de 100 %.

2.1.2. VALEUR DIAGNOSTIQUE DE L'EXAMEN PARASITOLOGIQUE EN FONCTION DES DIFFÉRENTS GROUPES DE POPULATION

La prévalence de la bilharziose au sein d'une

population varie en fonction des tranches d'âge.

Dans la bilharziose urinaire, le groupe de population le plus infecté est celui des enfants d'âge scolaire. C'est donc à ce « groupe indicateur » que nous nous adressons principalement lors de nos enquêtes épidémiologiques.

Dans la bilharziose intestinale, le groupe indicateur semble être composé par les adultes jeunes (15 à 35 ans), du moins en Haute-Volta. Il faut donc étudier la sensibilité du dépistage dans ces deux groupes de population afin de savoir lequel pourra être éventuellement choisi lors de nos enquêtes sur la schistosomiase mansonienne.

2.1.2.1. Valeur diagnostique chez les enfants

— 1 ^{er} passage : 23 + / 76 ex :	prévalence 30,2 %
— 2 ^e passage : 22 + / 87 ex :	— 25,2 %
— 3 ^e passage : 20 + / 89 ex :	— 24,5 %
— 4 ^e passage : 20 + / 80 ex :	— 24,3 %

La prévalence parasitologique moyenne à un seul examen, chez les enfants bilharziens est de 25,4 %. La prévalence parasitologique à 4 examens de selles est de 51,6 %.

La sensibilité du dépistage unique est de 49 % et la spécificité de 100 % chez les enfants.

2.1.2.2. Valeur diagnostique chez les adultes jeunes

— 1 ^{er} passage : 44 + / 86 ex :	prévalence 51,1 %
— 2 ^e passage : 48 + / 84 ex :	— 57,1 %
— 3 ^e passage : 50 + / 80 ex :	— 62,5 %
— 4 ^e passage : 45 + / 83 ex :	— 54,2 %

La prévalence parasitologique moyenne à un seul examen, chez les adultes bilharziens est de 56,1 %.

La prévalence à 4 examens de selles est de 82,6 %.

La sensibilité du dépistage unique est de 67 % et la spécificité de 100 % chez les adultes.

2.1.3. CONCLUSION

La sensibilité de notre examen parasitologique est de :

- 60 % lorsqu'on s'adresse à la population totale,
- 67 % quand on s'adresse au groupe des adultes jeunes (15 à 35 ans),
- 49 % quand on s'adresse au groupe des enfants d'âge scolaire (5 à 14 ans).

La comparaison statistique de ces pourcentages par le test du χ^2 , ne montre pas de différence significative :

- entre les 3 groupes de population ($\chi^2 = 5,5$ NS à 5 % pour 2 ddl),
- entre la population totale et les adultes jeunes ($\chi^2 = 1,17$ NS à 5 %),
- entre la population totale et les enfants ($\chi^2 = 2,77$ NS à 5 %).

Mais on note une différence significative entre le groupe des adultes jeunes et celui des enfants ($\chi^2 = 5,32$ significatif à 5 %).

Donc il semble logique de s'adresser, soit à un échantillon représentatif de la population totale, soit au groupe des adultes jeunes lors de nos enquêtes épidémiologiques sur *S. mansoni*.

2.2. Valeur diagnostique de l'examen sérologique en dépistage de masse

Nous avons étudié l'efficacité du diagnostic immunologique au sein de la population totale et au sein des différents groupes indicateurs.

2.2.1. VALEUR DIAGNOSTIQUE DE L'EXAMEN SÉROLOGIQUE DANS LA POPULATION TOTALE

Pour déterminer le couple sensibilité/spécificité de l'ELISA, il faut d'abord fixer le seuil de positivité c'est à dire déterminer la densité optique seuil (DO) à partir de laquelle nous considérons un sujet comme positif.

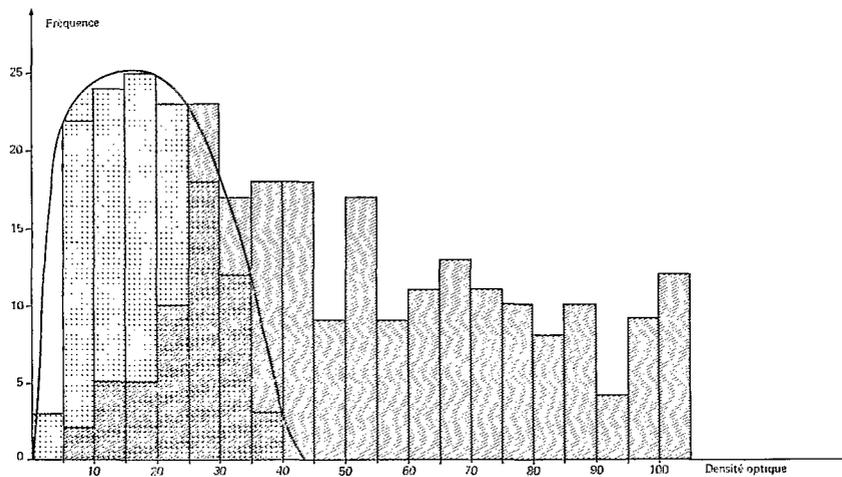


FIG. 1. — Histogramme de la distribution des sérums testés par la technique ELISA (en pointillé, les sérums négatifs, hachurés, les sérums positifs).

Nous avons comparé les DO des sujets sains par rapport aux DO des sujets bilharziens (fig. 1). La distribution des sérums négatifs obéit sensiblement à une loi normale dont la moyenne des DO est 17,9 et l'écart type 9,1. Autrement dit, 95 % des sérums négatifs ont une DO inférieure à 33, le seuil de positivité choisi (fig. 2). Par contre la distribution des sérums positifs n'obéit pas à une loi normale du fait de l'hétérogénéité de l'échantillon.

Le seuil de positivité ainsi déterminé, nous pouvons classer les sujets en 4 groupes :

- parasito + / immuno +
- parasito + / immuno —
- parasito — / immuno —
- parasito — / immuno +.

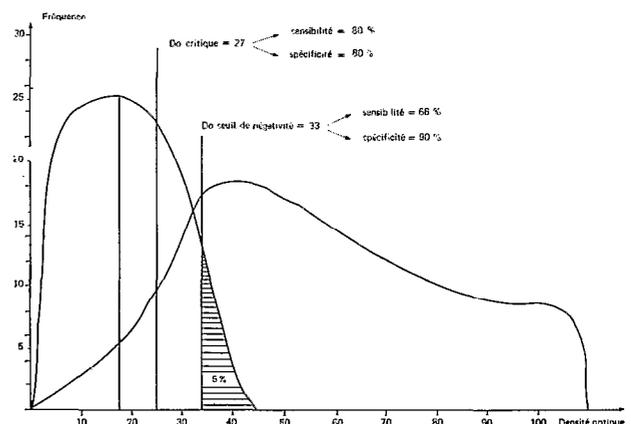


FIG. 2. — Courbe de distribution des sérums testés par la technique ELISA

DÉPISTAGE DE LA BILHARZIOSE PAR MIF ET ELISA

L'analyse statistique de 2 variables dichotomiques telles qu'une maladie (malades et sujets sains) et son immunodiagnostic (positifs et négatifs), se fait à l'aide du tableau de contingence 2 × 2 (Lafaye, 1976).

Pour une DO seuil de 30, nous obtenons les résultats suivants (tabl. I) :

TABLEAU I

Tableau de contingence 2 × 2 pour une DO seuil de 30

		Réaction immunologique		
		+	—	Total
Malades	+	66	34	100
	—	13	115	128
Total		79	149	228

La probabilité de faux positifs est égale au rapport du nombre de sujets sains faussement positifs sur le nombre total de sujets sains $\alpha = 13/128$. La spécificité de la réaction est égale à $1 - \alpha = 90\%$. La probabilité de faux négatifs est égale au rapport du nombre de sujets bilharziens faussement négatifs sur le nombre total de bilharziens $\beta = 34/100$. La sensibilité de la réaction immunologique est $1 - \beta = 66\%$.

Le tableau de contingence 2 × 2 a été appliqué de la même manière pour différentes DO. Pour chaque valeur nous avons calculé la sensibilité et la spécificité de la réaction immunologique. Ces valeurs ont été reportées sur un graphique (fig. 3).

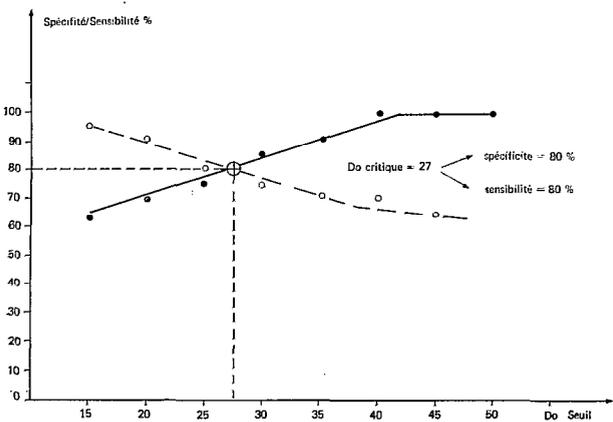


FIG. 3. — Détermination de la DO seuil correspondant à la valeur optimum du couple sensibilité/spécificité.

L'intersection entre les courbes nous donne la valeur de la DO pour laquelle le couple sensibilité/spécificité est le meilleur. Ici la DO seuil est égale à 27, la sensibilité et la spécificité sont égales à 80%. Autrement dit, l'ELISA utilisée en dépistage de masse, dans la population totale, avec un antigène somatique global de *S. mansoni*, permet de dépister 80% des sujets bilharziens et donne 20% de faux positifs.

2.2.2. VALEUR DIAGNOSTIQUE DE L'EXAMEN SÉROLOGIQUE EN FONCTION DES DIFFÉRENTS GROUPES DE POPULATION

Pour connaître le groupe indicateur auquel s'adresser lors de nos enquêtes épidémiologiques sur la schistosomiase mansoniene, nous avons étudié le couple sensibilité/spécificité de la réaction immunologique dans le groupe des enfants de 5 à 14 ans et celui des adultes jeunes de 15 à 35 ans.

Valeur diagnostique chez les enfants

Pour une DO seuil de 27 nous obtenons les résultats suivants (tabl. II) :

TABLEAU II

Tableau de contingence 2 × 2 pour une DO seuil de 27 chez les enfants

		Réaction immunologique		
		+	—	Total
Malades	+	16	10	26
	—	24	104	128
Total		40	114	154

La sensibilité est donc de 62% et la spécificité de 80%. En s'adressant au groupe des enfants nous dépistons en ELISA 60% seulement des sujets bilharziens et 20% de faux positifs.

Valeur diagnostique chez les adultes jeunes

Pour une DO seuil de 27 on obtient les résultats suivants (tabl. III) :

La sensibilité est donc de 87% et la spécificité de 80%. En s'adressant au groupe indicateur des adultes jeunes, nous dépistons en ELISA 87% des sujets bilharziens et 20% de faux positifs.

TABLEAU III

Tableau de contingence 2×2 pour une DO seuil de 27 chez les adultes jeunes

		Réaction immunologique		
		+	—	Total
Malades	+	64	10	74
	—	24	104	128
Total		88	114	202

2.2.3. CONCLUSION

La sensibilité de notre technique immunologique varie en fonction du groupe indicateur choisi. Elle est de :

- 80 % quand on s'adresse à la population totale,
- 87 % quand on s'adresse au groupe des adultes jeunes (15 à 35 ans),
- 62 % quand on s'adresse au groupe des enfants d'âge scolaire (5 à 14 ans).

Dans tous les cas la spécificité est de 80 %.

La comparaison statistique de ces pourcentages par le test du χ^2 montre une différence significative :

- entre les 3 groupes de population ($\chi^2 = 15,83$ significatif à 1 % pour 2 ddl),
- entre la population totale et les enfants ($\chi^2 = 9,64$ significatif à 5 %),
- entre les enfants et les adultes jeunes ($\chi^2 = 13,15$ significatif à 1 %).

Mais on ne note pas de différence significative entre le groupe des adultes jeunes et la population totale ($\chi^2 = 1,87$ NS à 5 %).

Donc il semble logique de s'adresser, soit à un échantillon représentatif de la population totale soit au groupe des adultes jeunes lors de nos enquêtes épidémiologiques sur *S. mansoni*. Nous arrivons à la même conclusion que pour l'examen parasitologique des selles.

3. DISCUSSION

La spécificité de l'examen parasitologique est excellente car la découverte d'œufs de *S. mansoni* dans les selles, permet d'affirmer le diagnostic.

Mais la sensibilité du MIF est médiocre. Nous ne dépistons que 60 à 65 % des bilharziens avec un seul examen de selles, en nous adressant indifféremment à un échantillon représentatif de la population totale ou au groupe indicateur des adultes jeunes. Cette sensibilité est toutefois supérieure à celle enregistrée avec la technique de Kato (*in Katz et al.*, 1972), particulièrement utilisée au Brésil. Le MIF permet en effet d'examiner 1 gramme de matières fécales, mais ne permet pas une lecture immédiate sur le terrain. En dehors de ce manque de sensibilité, notre examen parasitologique a un autre inconvénient : il nécessite le déplacement d'une équipe mobile importante dans des régions souvent éloignées, puisque nous rayonnons à partir de la Haute-Volta sur l'ensemble des pays francophones de l'Afrique de l'Ouest.

C'est pour pallier ces deux inconvénients que nous avons mis au point une technique immunologique réputée sensible, applicable au dépistage de masse et pouvant être effectuée à partir d'un micro-prélèvement de sang séché sur confetti. Dès lors les enquêtes épidémiologiques peuvent être réalisées par les formations sanitaires locales qui nous envoient ces confettis par la poste.

Toutefois, l'efficacité de la réaction sérologique est médiocre et le dosage des anticorps spécifiques ne reflète pas la charge parasitaire ni l'actualité de la maladie.

Deux faits peuvent expliquer la mauvaise efficacité :

Premièrement, nous utilisons des confettis souvent conservés dans de mauvaises conditions de température et d'humidité. McLaren *et al.* (1978) ont montré que les taux d'anticorps en ELISA sont nettement moins élevés quand le sang est prélevé sur confetti par rapport au prélèvement sur tube capillaire.

Deuxièmement, les témoins négatifs africains ont des DO élevées. Cette notion a déjà été signalée par Voller *et al.* (1977) et Roffy (1979). La courbe de distribution des DO chez les négatifs africains recouvre partiellement celle des positifs. Au contraire, quand on utilise des sérums négatifs européens, et c'est le cas dans la plupart des publications, les deux courbes de distribution des DO des sujets positifs et négatifs, sont nettement séparées. La distinction entre bilharzien et non bilharzien est alors très nette. Mais le seuil de positivité ainsi déterminé est trop faible et nous donne une mauvaise spécificité dès que la technique est appliquée en milieu endémique.

Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce « bruit de fond » important chez l'Africain non bilharzien :

— Il peut s'agir de la trace d'un contact antérieur avec les schistosomes humains ou animaux. Mais dans notre expérimentation, cette hypothèse peut être exclue. Nous nous sommes adressés à un village où n'existent pas de mollusques hôtes intermédiaires et à des enfants n'ayant jamais quitté ce village.

— Il peut s'agir d'une adsorption, sur le polystyrène, des immunoglobulines non spécifiques, souvent abondantes dans le sérum des Africains. L'adjonction d'antiglobulines humaines marquées, révèle non seulement les anticorps antibilharziens fixés sur l'antigène, mais aussi les immunoglobulines non spécifiques adsorbées sur les parois de la plaque. Cette hypothèse a été soulevée par Voller *et al.* (1976).

— Il peut s'agir enfin d'une réaction croisée avec d'autres parasitoses. Roffy (1979) note de fausses réactions positives avec des sérums filariens. Derouin *et al.* (1980) mentionnent des réactions croisées avec des sérums d'hydatidose, de filarioses, de trichinose, de distomatose, d'anguillulose et même d'ankylostomose et de cirrhose.

Des faux positifs sont aussi retrouvés par Hillyer *et al.* (1978) avec des sérums de distomatose, de trichinose, d'échinococose et de cysticercose. Capron *et al.* (1968) ont montré l'existence de fractions antigéniques communes entre l'antigène bilharzien et *F. hepatica*, *E. granulosus*, *T. spiralis*, *A. lumbricoïdes*, et *T. saginata*.

Si l'hydatidose, la distomatose et la trichinose sont des parasitoses inexistantes dans nos régions, il n'en est pas de même pour l'anguillulose, la cysticercose, l'ankylostomose et les filarioses qui y sont particulièrement fréquentes. Ainsi pourrait s'expliquer cet important « bruit de fond » chez l'Africain non bilharzien.

L'utilisation d'une fraction antigénique spécifique d'espèce peut nous permettre de diminuer ces fausses réactions positives. La spécificité de la réaction s'améliorant, il est alors possible d'abaisser le seuil de positivité et donc d'augmenter la sensibilité du dépistage. La technique ELISA ne consomme que très peu d'antigène parasite et permet donc l'utilisation de fractions antigéniques

pures en dépistage de masse, malgré le coût important de ce matériel biologique.

La recherche d'anticorps antibilharziens ne nous renseigne pas sur l'intensité de la charge parasitaire ni sur l'actualité de l'infection. Or ces deux paramètres sont importants pour poser les indications d'une chimiothérapie de masse. Le dosage des antigènes circulants dans le sang du malade, semble refléter l'importance de la charge parasitaire et peut servir de test de guérison (Santoro *et al.*, 1978). Il est donc logique de coupler à la fois : la recherche d'anticorps antibilharziens spécifiques et le dosage quantitatif des antigènes circulants, à partir du même prélèvement sérique et avec la même technique immunologique, l'ELISA. C'est vers ce but que tendent nos recherches, afin de pouvoir proposer une nouvelle « stratégie » dans le dépistage de masse de la schistosomiase mansonienne.

4. CONCLUSION

Le dépistage de masse de la schistosomiase mansonienne se heurte au manque de sensibilité de l'examen parasitologique. La technique du MIF que nous utilisons au Centre Muraz, nécessite le déplacement sur le terrain d'une équipe mobile importante ce qui augmente le coût de nos enquêtes épidémiologiques. D'autre part l'exploitation des prélèvements demande beaucoup de temps et de travail. C'est pour ces raisons que nous avons tenté d'appliquer, au sein des pays de l'O.C.C.G.E., un dépistage immunologique par la technique ELISA.

L'efficacité de ce test, dans la recherche des anticorps antibilharziens, est actuellement décevante puisque nous ne dépistons que 80 % à 85 % des sujets infectés avec 20 % de faux positifs. Mais l'utilisation prochaine d'un antigène purifié nous fait espérer de meilleurs résultats. Quoi qu'il en soit, la découverte d'anticorps antibilharziens ne nous permet pas d'affirmer l'actualité de la maladie ni de chiffrer la charge parasitaire des individus. Il est possible que le dosage couplé des antigènes circulants par la même technique immunologique nous permette de résoudre ce problème.

*Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.,
le 2 novembre 1982.*

BIBLIOGRAPHIE

- BIGUET (J.), ROSE (F.), CAPRON (A.) et TRAN VAN KY (P.), 1965. — Contribution de l'analyse immunoélectrophorétique à la connaissance des antigènes vermineux. Incidences pratiques sur leur standardisation, leur purification et le diagnostic des helminthiases par immunoélectrophorèse. *Revue Immuno.*, 29 : 5-30.
- CAPRON (A.), BIGUET (J.), VERNES (A.) et AFCHAIN (D.), 1968. — Structure antigénique des helminthes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite. *Path. Bio.*, 16 : 121-138.
- DEROUIN (F.), HEYER (F.), LARIVIÈRE (M.) et PETITHORY (J.), 1980. — L'ELISA bilharziose : limites des possibilités d'application. *Path. Bio.*, 28 : 465-468.
- ENGVALL (E.) et PERLMAN (P.), 1972. — Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA). *J. Immuno.*, 109 : 129-135.
- HILLYER (G. V.), 1979. — The enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA) for the immunodiagnostic of schistosomiasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 28 : 237-241.
- KATZ (N.), CHAVES (A.) et PELLEGRINO (J.), 1972. — A simple device for quantitative stool thick-mear technic in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 14 : 397-400.
- LAFAYE (A.), 1976. — Association entre 2 variables dichotomiques. Valeur diagnostique d'une réaction immunologique. *Doc. Tech. O.C.C.G.E.*, n° 162.
- MCLAREN (M.), 1978. — Studies on the ELISA test for *Schistosoma mansoni* infections. *Ann. Trop. Med. Paras.*, 72 : 243-253.
- PLOUVIER (S.), LEROY (J.-C.) et COLETTE (J.), 1975. — A propos d'une technique simple de filtration des urines dans le diagnostic de la bilharziose urinaire en enquête de masse. *Méd. Trop.*, 35 : 226-232.
- ROFFY (J.), 1979. — Diagnostic immunoenzymatique de la bilharziose urinaire à l'aide d'un antigène hétérologue. *Rap. final 19^e Conf. Techn. O.C.C.G.E.*, Bobo-Dioulasso.
- SANTORO (F.) *et al.*, 1978. — The use of RIPEGA assay to quantify circulating antigens in human and experimental schistosomiasis. *J. Immuno. Meth.*, 24 : 229-237.
- SAPERO (J. J.) et LAWLESS (D. K.), 1953. — The « MIF » stain preservation technic for the identification of intestinal protozoa. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2 : 613-619.
- VOLLER (A.), BARTLETT (A.) et BIDWELL (D. E.), 1976. — ELISA for parasitic diseases. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 70 : 98-106.
- VOLLER (A.), BIDWELL (D. E.), BARTLETT (A.) et EDWARDS (R.), 1977. — Comparison of isotopic and enzyme immunoassays for tropical parasitic diseases. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71 : 431-437.