

UNIVERSITE de PARIS-SUD
Centre d'ORSAY
Laboratoire d'Entomologie.

Mémoire de D.E.A.

Contribution à l'étude de l'Onchocercose au CAMEROUN:

Enquête séro-épidémiologique dans la Région de TOUBORO.

par

André YEBAKIMA

O.R.S.T.O.M.

Entomologie médicale et vétérinaire

Janvier 1977

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 13503, ex 1

Cpte : B

Je remercie:

- Tout le Personnel du Laboratoire d'Entomologie médicale et vétérinaire de l'O.R.S.T.O.M.-Bondy.
- Monsieur J. MOUCHET qui m'a proposé ce stage en milieu hospitalier.
- Monsieur Le Professeur M. GENTILINI qui m'a accueilli avec beaucoup de bienveillance dans son Service.
- Messieurs D. RICHARD-LENOBLE, M. LOISY, B. CARME qui m'ont apporté aide et conseils permanents.

=====

Plan d'Etude:

I- INTRODUCTION:

II- MATERIEL d'Etude:

III- METHODES d'Etude:

A- Le Diagnostic des filarioses

B- Etude Parasitologique

C- Etude Sérologique

CI. Introduction

C2. Les techniques appliquées à l'enquête de TOUBORO

- L'Immunofluorescence indirecte(I.F.I.)

- L'Immunodiffusion(I.D.)

- L'Analyse immunoélectrophorétique(A.I.E.)

- L'Electrosynérèse(E.S.)

IV- RESULTATS:

A- Parasitologie

B- Sérologie

- I.F.I.

- I.D.

- A.I.E.

- E.S.

- Comparaison et Association des techniques

V- CONCLUSION:

- Parasitologie

- Sérologie et diagnostic

- Sérologie et enquête épidémiologique

- Remarques générales

VI- BIBLIOGRAPHIE:

I- INTRODUCTION:

Parmi les nombreuses endémies tropicales, les filarioses pathogènes pour l'homme (onchocercose, loase, bancroftose, dracunculose) occupent une place importante par leurs conséquences socio-économiques; on estime à 150 millions le nombre de sujets atteints de filarioses dans le monde.

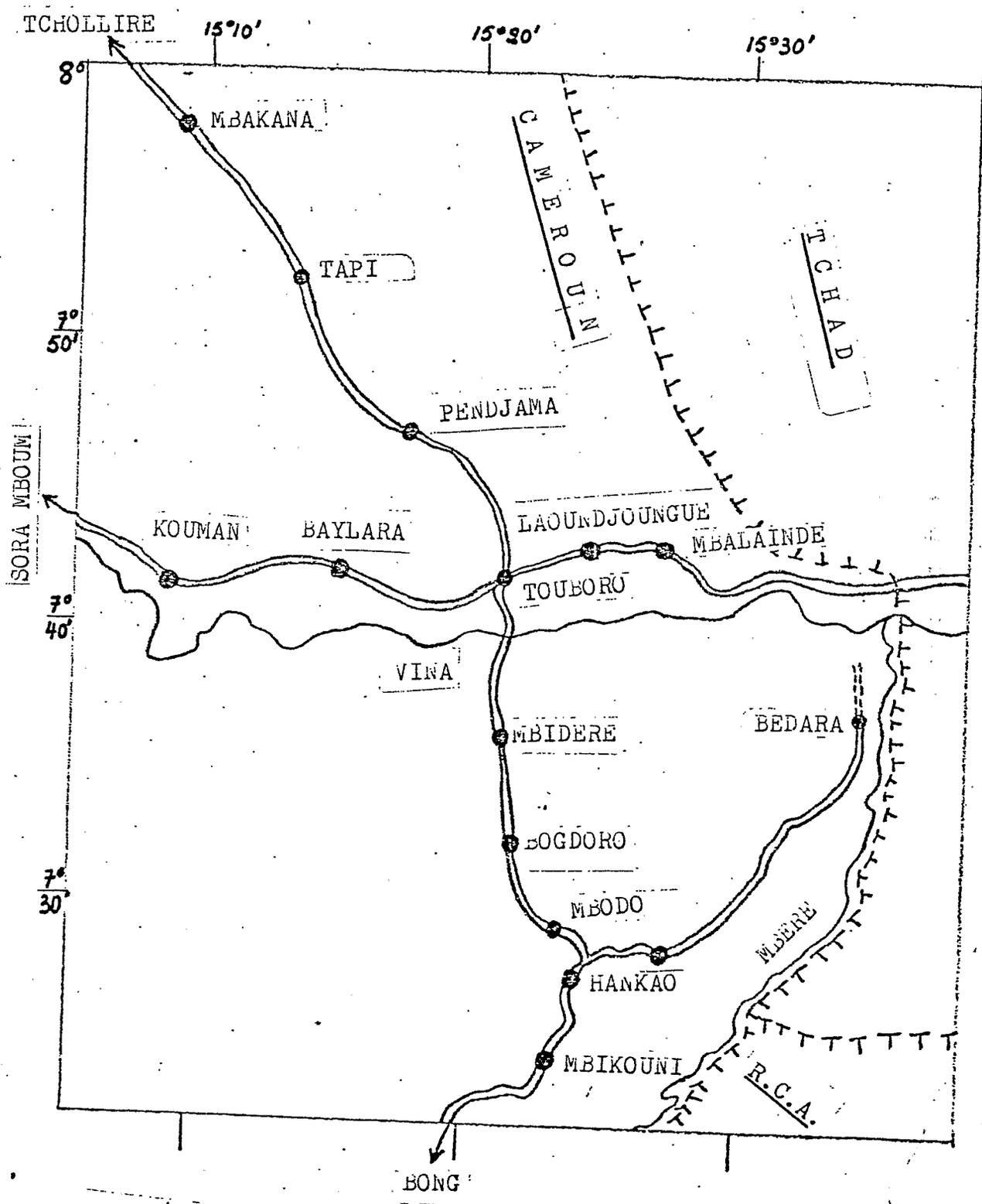
L'onchocercose humaine, deuxième cause mondiale de cécité, est répandue en Amérique latine, au Yémen et surtout en Afrique tropicale et équatoriale. Elle touche 25 à 30 millions de personnes dans le monde, dont environ 99 pour cent en Afrique. Mais on dispose encore d'enquêtes assez fragmentaires sinon inexistantes, dans certaines régions (surtout en Afrique équatoriale) pour établir un taux d'endémicité réel de cette affection.

Dans le cadre des accords O.C.E.A.C.-O.R.S.T.O.M.-C.H.U. Pitié (Laboratoire de Parasitologie et Médecine tropicale), une étude des filarioses a été entamée dans le foyer inter-Etats d'onchocercose du bassin Vina-Pendé-Logone, intéressant à la fois le Cameroun, la République Centrafricaine et le Tchad.

La région de TOUBORO (7°46'N; 15°21'S) est située dans le département de la BENOUE (Nord Cameroun). Tous les villages prospectés sont situés aux environs des principaux cours d'eau, ce qui favorise le contact homme-vecteur et l'infestation onchocercarienne; voir carte; il s'agit ici essentiellement d'une onchocercose de savane, caractérisée par ses atteintes oculaires plus fréquentes et plus graves que dans l'onchocercose de forêt.

Le but des enquêtes menées dans cette région était d'apprécier la prévalence et le retentissement socio-économique de l'endémie.

TOUBORO



$e=1/400000$

II- MATERIEL d'Etude:

Sur le terrain, les études entomologiques et parasitologiques ont été faites par les chercheurs de l'O.R.S.T.O.M. (BRENGUES et LAMIZANA), les études cliniques par les médecins de l'O.C.E.A.C.; Pour les études nutritionnelles et sérologiques, il a été procédé à des ponctions de sang veineux sur des sujets tirés au sort chez les 3/10 des familles examinées; la répartition selon les villages est la suivante:

Villages	Nombre de familles examinées	Nombre de sujets examinés
I- PENDJAMA	2	17
2- TAPI	3	15
3- MBAKANA	2	8
4- BAYLARA	4	21
5- KOUMAN	3	17
6- MBIKOUNI	1	7
7- HANKAO	1	14
8- MBODO	4	20
9- BEDARA	2	20
10- BOGDORO	3	21
11- BIDERE	1	10
12- MBALAINDE	1	10
13- LAOUNDJOUNGUE	3	23
Total.....	<hr/> 30	<hr/> 203

Ainsi, 204 sérums furent prélevés, accompagnés (sauf pour un seul sérum) d'une fiche portant les renseignements suivants: origine, sexe, âge, résultats parasitologiques, signes cliniques, état général; ces sérums ont été adressés au Service du Pr. GENTILINI.

L'étude que nous avons entreprise se propose de comparer la situation parasitologique des sujets prélevés, à l'étude sérologique par 4 techniques:

- l'immunofluorescence indirecte.
- l'immunodiffusion.
- l'analyse immunoélectrophorétique.

- l'électrosynérèse, cette dernière technique étant appliquée pour la première fois à une enquête séro-épidémiologique sur les filarioses.

- O.R.S.T.O.M. : Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre Mer.

- O.C.E.A.C. : Organisation de Coordination pour la lutte contre les Endémies en Afrique Centrale.

- C.H.U. : Centre Hospitalier Universitaire.

III- METHODES d'ETUDE:

A- Le Diagnostic des Filarioses:

Pour le clinicien et l'épidémiologiste, deux types d'arguments interviennent dans le diagnostic des filarioses:

- les arguments directs: ce sont les examens classiques de goutte épaisse, frottis sanguin, leucoconcentration, biopsie cutanée exsangue qui conduisent à l'observation et l'identification des microfilaires dans le sang ou dans le derme; mais cette observation des microfilaires est parfois défailante (absence de microfilarémie ou autre cause).

La découverte d'une filaire adulte (reptation sous la conjonctive oculaire dans le cas de Loa-loa, présence dans un kyste dans le cas d'Onchocerca volvulus), deuxième argument de certitude, n'est pas toujours possible.

- les arguments indirects: grâce à l'essor considérable de l'immunologie au cours des dernières décennies, le diagnostic immunologique de nombreuses parasitoses est entré dans la pratique. La réaction immunologique en affirmant la présence d'anticorps témoins de l'infestation filarienne est d'un apport non négligeable, tant en zones d'endémies qu'en dehors de celles-ci.

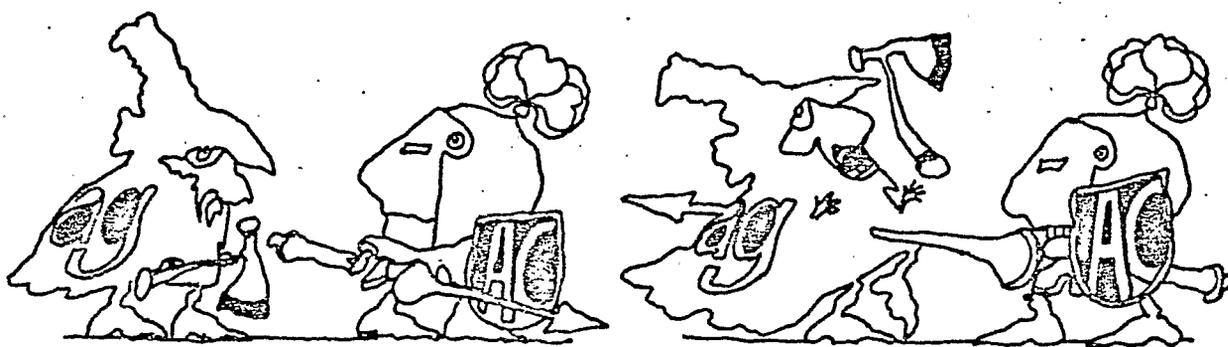
B- Etude Parasitologique:

A partir des renseignements accompagnant chaque sérum, nous avons établi la situation parasitologique des 203 sujets prélevés. Pour ce fait nous avons retenu deux indices:

- l'indice microfilarien qui est le nombre de porteurs de microfilaires par rapport au nombre total des sujets examinés, multiplié par 100; cet indice est l'un des moyens les plus simples pour apprécier l'importance d'une endémie filarienne dans une région donnée.

- la densité microfilarienne (ou moyenne de Williams) qui est la moyenne géométrique calculée sur l'ensemble des sujets positifs et négatifs.

Nous avons ensuite étudié la variation de ces indices en fonction de différents paramètres: village, âge, sexe, etc.....



Ag et Ac

(J. P. Harpey)

C- Etude Sérologique:

CI: INTRODUCTION:

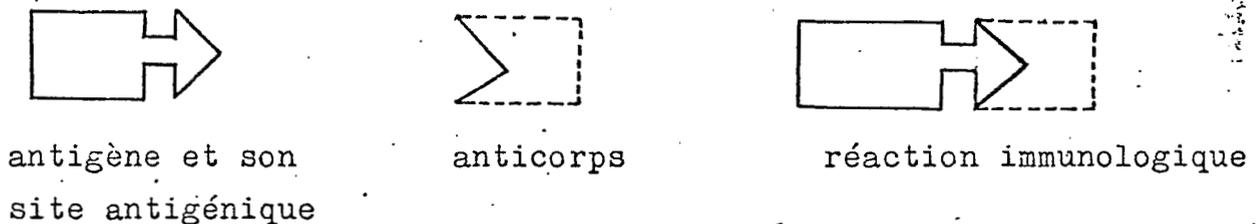
a/- généralités:

La réponse immunitaire se définit classique comme étant un moyen de défense de l'organisme contre une infection quelconque. Le principe de toute réaction immunologique est la combinaison (spécifique ou non) de l'antigène et de l'anticorps, combinaison régit par l'étroit rapport existant entre le site antigénique et le site correspondant de l'anticorps.

On appelle antigène une substance qui, introduite dans l'organisme provoque la formation d'anticorps donnant avec elle une réaction spécifique ou non; un antigène peut également provoquer une réaction d'immunité cellulaire, mais sans anticorps décelables.

On appelle anticorps une substance dont la synthèse par l'organisme est provoquée par l'introduction d'un antigène. Lorsque des anticorps sont décelables dans le sérum, ils sont circulants.

schéma de la réaction antigène-anticorps



b/- Les différentes techniques utilisées en sérologie des filarioses:

- Les tests cutanés.
- Le test de rosette.
- La fixation du complément.
- L'hémagglutination.
- L'inhibition de la migration des leucocytes.
- L'immunofluorescence.
- L'immunodiffusion.
- L'immunoélectrophorèse.
- L'électrosynérèse.

c/- Le problème des antigènes: sources et préparation.

= sources:

x-les antigènes homologues: A l'exception d'Onchocerca volvulus qu'on peut extraire des nodules onchocerquiens, il est actuellement difficile de se procurer des antigènes en quantité suffisante à partir de filaires ou microfilaires humaines. Compte tenu des communautés antigéniques existant entre les différents Nématodes (BIGUET et coll., 1964; CAPRON et coll., 1968; NIEL et coll., 1972a et b;), on a recours à des antigènes de substitution ou antigènes hétérologues.

x-les antigènes hétérologues: ce matériel peut être récolté à partir:

-des filaires dont le cycle est réalisable au laboratoire; la plus anciennement utilisée est la filaire du chien Dirofilaria immitis (travaux de SAWADA et coll., 1962, 1965). A signaler également: Litomosoides carinii, filaire du rongeur Sigmodon ou rat coton; Dipetalonema viteae, filaire du hamster doré;

-des filaires parasites des Bovidés: Setaria labiato-papillosa;

-des helminthes responsables de parasitoses cosmopolites tels que Taenia solium, T. saginata, Ascaris.

De ce fait, les essais de reproduction au laboratoire du cycle de certaines filaires de l'homme devraient être encouragés et multipliés:

ASH (L.R.), 1973: Brugia pahangi et B. malayi, sur mérion (Meriones unguiculatus);

HARBUT (C.L.), 1973: B. pahangi et B. malayi sur hamster.

ORIHÉL et MOORE, 1975: Loa-loa sur Papio anubis et Erythrocebus patas.

= préparation:

En pratique, selon les critères d'utilisation on distingue les antigènes solubles et les antigènes figurés.

=

x-les antigènes solubles:

-matériel parasitaire fraîchement récolté ou lyophilisé.

-extraction (broyage, centrifugation, dialyse) dans des solutions salines ou tamponnées, constamment à de basses températures.

-l'extrait est lyophilisé dans des conditions optimales et stocké à l'abri de l'humidité.

-délipidation de l'extrait en le privant des constituants non spécifiques, responsables de nombreuses réactions croisées.

-standardisation: dosage d'azote (évaluation pondérale du taux d'azote par milligramme d'antigène.-aspect quantitatif-. analyse immunoélectrophorétique de l'extrait pour éliminer les lots défectueux.

x-les antigènes figurés ou corpusculaires: ce sont essentiellement des coupes d'une épaisseur de 5microns .! réalisées à partir d'une filaire ou d'un fragment de celle-ci congelée à -20°C. Ces coupes sont ensuite déposées sur des lames porte-objets adaptées et constitueront le support antigénique de la réaction immunologique.

C2: LES 4 TECHNIQUES APPLIQUEES A L'ENQUETE DE TOUBORO:

C2.I: L'IMMUNOFLUORESCENCE:

a/- Principe et applications:

L'Immunofluorescence a été découverte par COONS en 1942, mais déjà en 1934 MARACK signalait que certains colorants pouvaient être couplés à des anticorps sans que les propriétés de ces derniers soient modifiées.

Son principe consiste à révéler la présence d'antigènes dans une structure cellulaire ou tissulaire par application d'un antisérum spécifique préalablement rendu fluorescent par fixation d'un fluorochrome (substance qui, soumise à une source lumineuse émet une lumière de longueur d'onde supérieure-530 nm-à celle qui l'avait excitée -490 nm-); Les deux produits les plus utilisés sont l'isothiocyanate de fluorésceine qui donne une fluorescence verte et l'isothiocyanate de rhodamine qui donne une fluorescence orange. La lecture se fait au microscope à U.V.; un premier filtre (excitateur) arrête les rayons visibles; un deuxième, situé entre l'objectif et l'oculaire arrête les U.V. et laisse passer la lumière fluorescente.

Les premières applications de cette technique dans le diagnostic des filarioses ont été faites avec des antigènes corpusculaires:

-microfilaires entières: CHOWDHURY et SCHILLER, 1962; LUCASSE, 1962; LUCASSE et HOEPPLI, 1963;

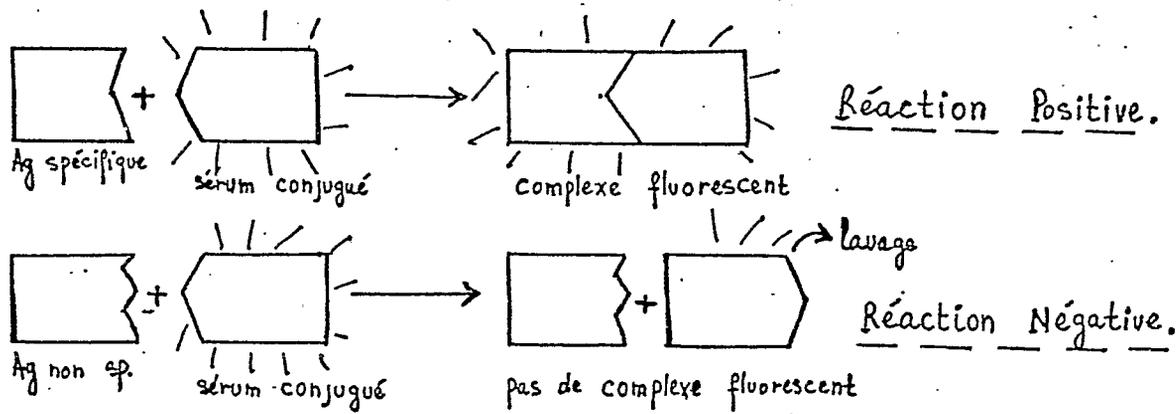
-fragments de microfilaires ultrasonnés: MANTOVANI et SULZER, 1966;

-disques d'acétate de cellulose imprégnés d'antigènes filariens solubles: DUXBURY et SADUN, 1967.

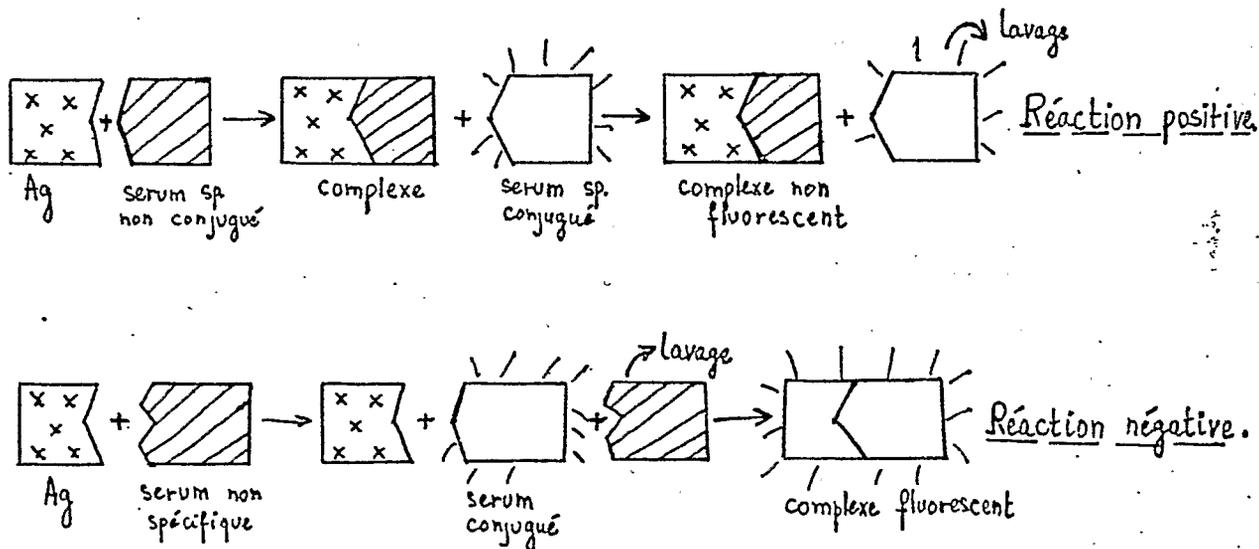
Mais toutes ces opérations sont de réalisation délicate et longue et exigent un abondant matériel parasitaire.

Les 3 variantes de l'immunofluorescence:

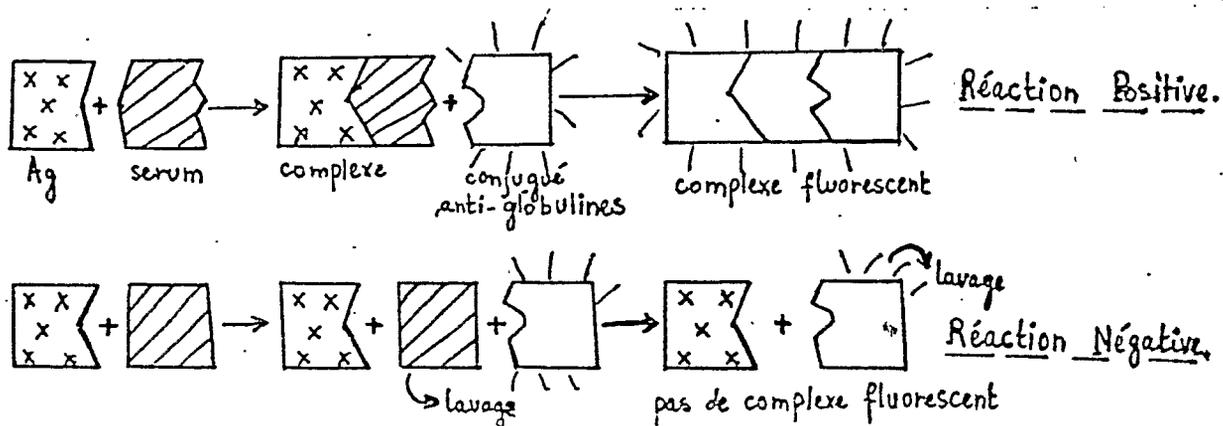
-méthode directe: cette méthode nécessite la conjugaison de chaque sérum étudié, donc opération longue et délicate; Par ailleurs, cette méthode n'est pas utilisable pour la recherche d'anticorps sériques.



-méthode d'inhibition: le conjugué fluorescent est préparé à partir d'un immunsérum spécifique de l'antigène considéré; Le sérum étudié ne joue plus le rôle de trait d'union entre l'antigène et le composé fluorescent; si le sérum est positif, il inhibe la fixation du conjugué.



-méthode indirecte: le sérum et l'antigène sont mis en contact l'un et l'autre; si le sérum est positif, c'est à-dire contient des anticorps "spécifiques", le complexe antigène-anticorps se forme; ce-complexe est ensuite mis en évidence grâce au conjugué fluorescent anti-globulines.



Cette dernière méthode, plus sensible et plus pratique que les deux autres est actuellement la plus employée; elle a été améliorée par COUDERT et coll., 1968; AMBROISE-THOMAS, 1969; MULLER, 1970; GENTILINI et coll., 1972. Ces auteurs ont développé la méthode en utilisant des antigènes corpusculaires constitués par les coupes (5 microns d'épaisseur) à la congélation des filaires adultes.

COUDERT et coll., 1968, retrouvent en immunofluorescence indirecte contre les antigènes Dipetalonema viteae et Dirofilaria immitis, une positivité de 95,2% sur 63 sérums de filariens confirmés; ils observent que la réaction positive est caractérisée par une fluorescence verte, typique de l'espace sous-cutané, avec moins d'intensité en bordure de la cavité générale; dans la réaction négative, la coupe a une coloration rouge, due aux U.V. sur le bleu d'Evans.

GENTILINI et coll., 1972(a), étudient contre les antigènes D.viteae et Setaria labiatopapillosa, 356 sérums de sujets atteints de Dracunculose confirmée et retrouvent une positivité de 99% avec l'antigène D.viteae et 97% avec l'antigène S.labiatopapillosa.

PINON et GENTILINI, 1972, suggèrent l'utilisation d'une solution de Teepol à 1% à la phase de lavage; cela améliore les résultats obtenus avec l'antigène D.viteae et élimine les réactions croisées. Suite aux travaux de nombreux auteurs, l'antigène D.viteae est le plus utilisé dans la pratique courante: COUDERT et coll., 1968; AMBROISE-THOMAS, 1969; S.TERRENO, 1970; AMBROISE-THOMAS, 1972; GENTILINI et coll. 1972(a et b); SUTER-KOP et coll., 1972; TEN-EYCK, 1973; DIESFELD et coll., 1973.

b/- Mode opératoire:

-fixation des coupes préparées depuis plus de 24h dans une solution de Wolkman, à -20°C; les lames sont plongées pendant 30 secondes puis lavées dans deux bains successifs de tampon pH 7,2 pendant 5mn et séchées.

-sur les coupes disposées à l'intérieur de cercles gravés, déposer une grosse goutte de différentes dilutions (raison 2) des sérums à étudier (1/100, 1/200, 1/400,).

-laisser 30mn à l'étuve (37°C).

-laver les lames dans la solution de Teepol à 1% pendant 5mn, puis dans un bain de tampon pH 7,2 pendant 5mn.

-égoutter soigneusement les lames en évitant un séchage complet;

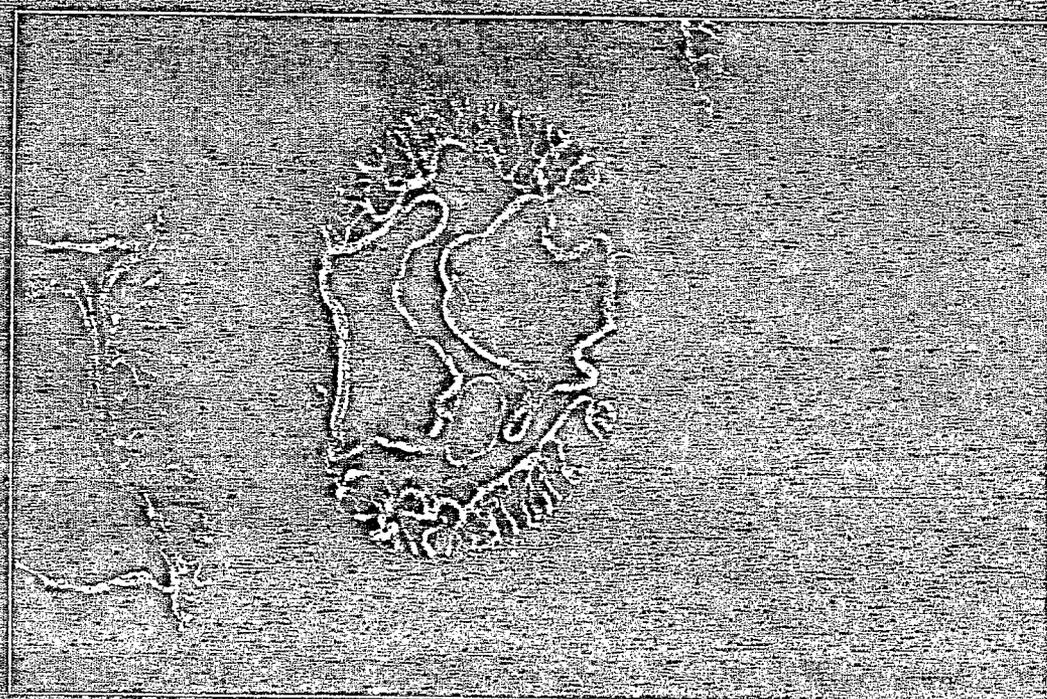
-répartir une grosse goutte de conjugué en associant directe-

ment le bleu d'Evans en solution au 1/10000; laisser agir 30mn puis laver pendant 10mn dans un bain de tampon pH7,2.

-recouvrir chaque préparation d'une lamelle montée directement en tampon, puis examiner au microscope(objectif x 40).



Aspect de fluorescence positive sur une coupe de D. viteae



Réaction négative sur une coupe de D. viteae

C2.2: L'IMMUNODIFFUSION:

a/- Principe et applications:

Cette technique dérive de l'immunodiffusion en tubes décrite par J. OUDIN (Institut Pasteur Paris, 1949). Le mérite d'OUCHTERLONY (1947) est d'avoir adapté les plaques de verre à l'immunodiffusion sur gel. L'antigène et l'anticorps, déposés dans des puits différents diffusent l'un vers l'autre et précipitent à l'équivalence; Si la concentration d'anticorps est relativement plus importante que celle de l'antigène, et si les coefficients de diffusion dans le gel sont égaux, les bandes de précipité se forment plus près du puits d'antigène, alors que l'inverse est observé en cas d'excès d'antigène.

Dans sa revue sur le diagnostic immunologique des filarioses, KAGAN (1963) ne cite pas de travaux utilisant cette technique; il signale juste des réactions de précipitation en milieu liquide, auxquelles il reproche le manque de sensibilité; cependant en 1961, il signalait déjà l'intérêt de la diffusion en gélose dans l'analyse des antigènes parasitaires.

BIGUET et coll., 1964, appliquent l'immunodiffusion au diagnostic de l'onchocercose avec l'antigène homologue. A partir des travaux de l'Ecole Lilloise (CAPRON et BIGUET 1962 et 1968) plusieurs auteurs vont révéler l'intérêt des tests de précipitation en gélose dans le diagnostic immunologique des helminthiases;

NIEL et coll., 1972(a), testent les antigènes Ascaris suum, Onchocerca volvulus et Dipetalonema viteae en immunodiffusion; sur 108 sérums d'onchocercariens, les réponses positives sont de 96,3% avec l'antigène O. volvulus et 95,3% avec l'antigène A. suum. Ces auteurs constatent que malgré la richesse des réactions croisées entre O. volvulus et A. suum, les images de fusion identifiant des fractions communes sont rares. L'immunodiffusion donne une image assez caractéristique de l'onchocercose, mais pas pour la loase et la wuchereriose.

In NIEL et coll., 1972(a), BIGUET et coll. 1964, CAPRON et coll. 1968, trouvent des taux de positivité de 88,7% et 96% avec l'antigène ascaridien; BRUMPT et coll., 1972, trouvent 88,5%.

NIEL et coll., 1972(b), testent l'antigène Setaria labiatopapillosa (filaire des Bovidés, d'obtention facile); Les auteurs concluent que Setaria labiatopapillosa n'offre pas les mêmes avantages constants et décisifs qu'A. suum et D. viteae.

La fréquence et la qualité des réponses aux extraits d'A.suum confrontées à celles des antigènes O.volvulus et D.viteae justifient leur emploi plus régulier dans les tests de précipitation.

b/- Mode opératoire:

- antigène: Ascaris(liquide méésentérique): 5mg/0,03ml d'eau bidistillée.
- sérum: non lyophilisé
- agarose: 90mg/10ml sur des lames de verre de 10,5cm x 5,2cm;
- creuser les puits
- double remplissage continu des puits-sérums, avec pré-diffusion de 1heure 30mn vis-à-vis de l'antigène ascaridien.
- 24h à la température ambiante, sous atmosphère humide;
- 24h à +4°
- un bain de citrate à 5%; au minimum 2h.
- un lavage dans le tampon pH 8,2 pendant 72h; changer 2 fois le tampon.
- 3 déminéralisations
- coloration(5mn) à l'Amidoschwartz à 1%
- décoloration(10mn)
- lecture après séchage des lames.

C2.3: L'ANALYSE IMMUNOELECTROPHORETIQUE:

a/- Principe et applications:

L'Analyse immunoélectrophorétique ou immunoélectrophorèse est une application de l'immunodiffusion, mise au point par GRABAR et WILLIAMS en 1954; Elle associe une électrophorèse en gélose à une précipitation immunologique en présence d'antisérum spécifique;

Le principe de la technique consiste à introduire l'antigène dans un puits creusé dans la plaque de gélose et à appliquer un champ électrique afin de séparer les molécules d'antigène selon leur mobilité électrophorétique. Puis le champ électrique est coupé et on introduit le sérum dans une rigole parallèle au champ de migration. Antigène et anticorps diffusent alors l'un vers l'autre et donnent des précipités analogues à ceux décrits dans la technique d'OUCHTERLONY, avec les mêmes règles d'interprétation.

Cette technique a suivi une évolution parallèle à celle de l'immunodiffusion; son intérêt en immunologie parasitaire est révélé dès 1960 par BIGUET et coll.; En 1962, ces mêmes auteurs identifient 3 fractions spécifiques d'O. volvulus; En 1964, ils étudient en immunodiffusion et en immunoélectrophorèse 107 sérums d'onchocerciens contre les antigènes O. volvulus, D. viteae, Dirfilaria immitis, A. suum, Schistosoma mansoni; en immunoélectrophorèse les auteurs trouvent une positivité de 71,9%.

CAPRON et coll., 1968, trouvent face à l'antigène D. viteae des taux de positivité de 87% dans l'onchocercose, 82,14% dans la wuchereriose, 65,51% dans la loase.

NIEL et coll., 1972(b), observent face aux antigènes S. labiatopapillosa, D. viteae, A. suum qu'en immunoélectrophorèse, les onchocercoses déterminent un aspect très caractéristique; les arcs se localisent dans les zones moyenne et cathodique du diagramme;

PETITHORY et coll., 1973, trouvent un taux de 87,17% face à l'antigène A. suum;

D'une manière générale, dans l'onchocercose, les taux de positivité sont élevés aussi bien avec l'antigène homologue que les antigènes hétérologues (Ascaris, D. viteae).

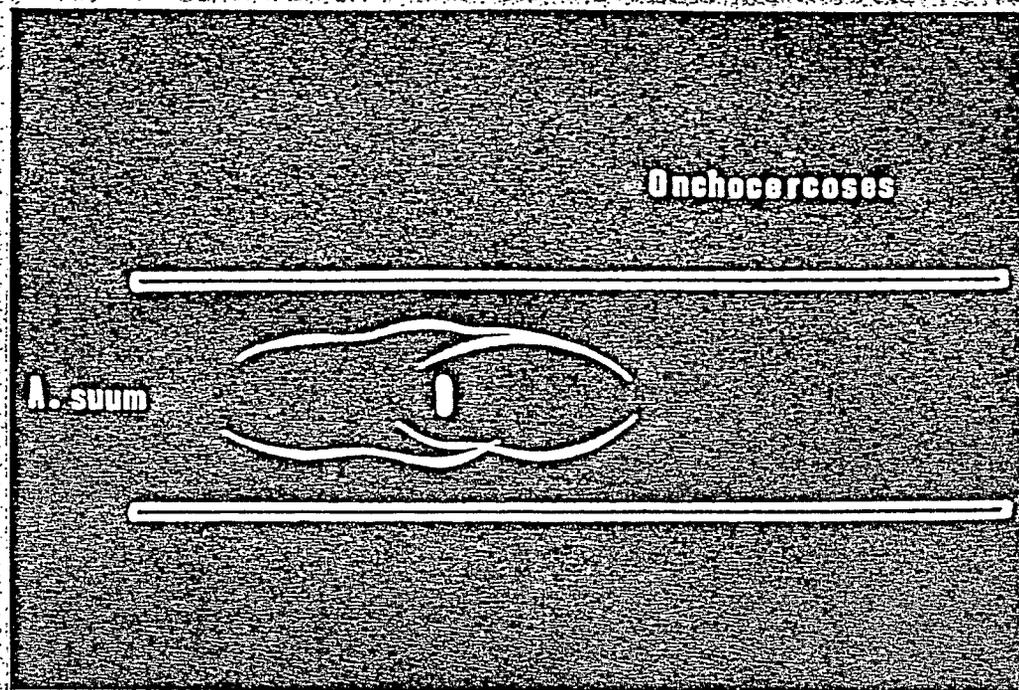
L'immunoélectrophorèse est actuellement la seule technique qui permette un diagnostic spécifique de la filaire en cause; En effet, CAPRON, GENTILINI et VERNES (1968) ont montré l'existence d'arcs spécifiques par leur forme et leur localisation au sein de l'électrophorégamme; Sur cette base on peut distinguer les filarioses entre elles (onchocercose, loase, wuchereriose) et des autres helminthiases; En effet, l'antigène A. suum couramment utilisé ne précipite pas dans l'ascaridiose, et rarement dans la bilharziose et la

strongyloïdose; L'immunoélectrophorèse donne également un arc spécifique du syndrome de Larva migrans viscerale.

"Réaliser un diagnostic spécifique en utilisant un antigène hétérologue est, en première analyse, quelque peu paradoxal. Le fait trouve son explication dans la nature des communautés antigéniques unissant les Filaroidea. Les parentés structurales, toujours très importantes dans ce groupe comportent néanmoins des fractions unissant spécifiquement telle filaire à telle autre. On peut donc être amené à définir, en fonction d'un antigène de référence choisi, l'existence d'un système précipitant spécifique de l'une ou l'autre filaire incriminée" (CAPRON, GENTILINI, VERNES, 1968).

b/- Mode opératoire:

- antigène: Ascaris (liquide méésentérique): 2mg/0,01ml de Bromophénol;
- sérum: 0,8ml lyophilisé, repris dans 0,2ml d'eau bidistillée;
- agarose: 200mg/20ml par lame.
- dépot d'antigène
- migration (22V, 20mA/lame), jusqu'à ce que la bande de migration de l'antigène arrive en fin de rigole-sérum.
- dépot des sérums
- 24h à la température ambiante, sous atmosphère humide;
- 24h à +4°;
- un bain (minimum 2h) de citrate à 5%;
- un lavage dans le tampon pH 8,2 pendant 72h; changer 2 fois le tampon.
- 3 déminéralisations
- coloration (5mn)
- décoloration (10mn)
- lecture après séchage des lames.



Arcs caractéristiques de l'onchocercose en présence de l'antigène Ascaris suum.

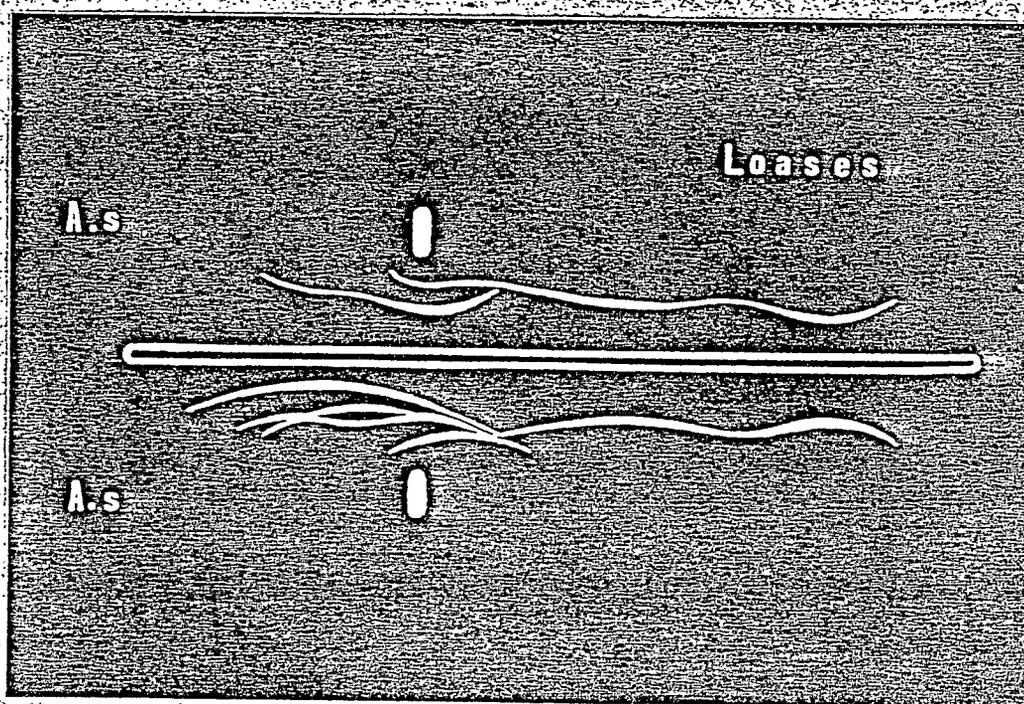
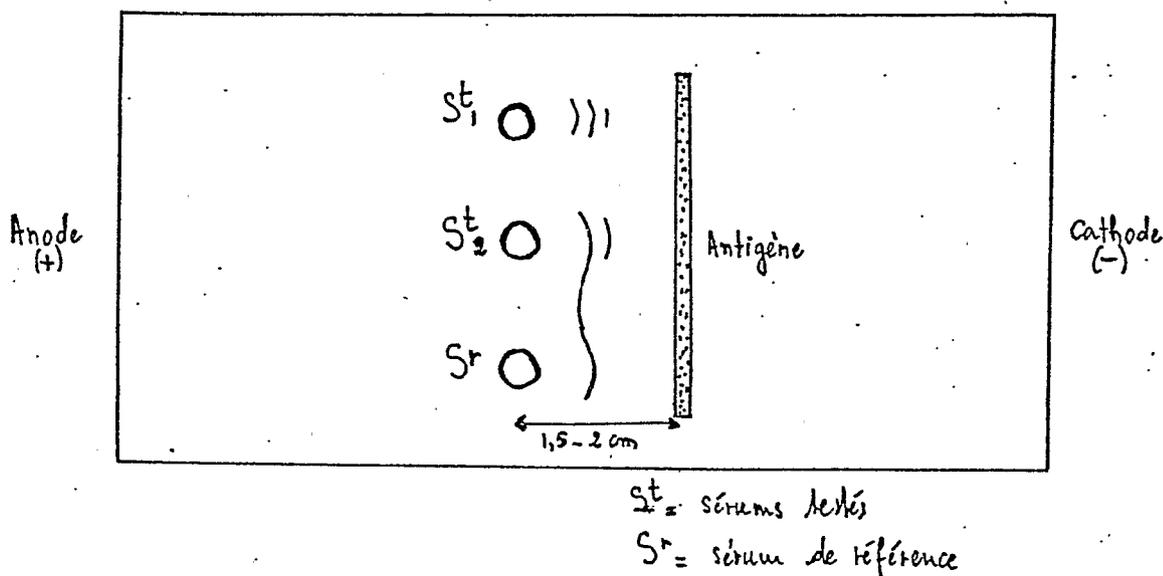


Tableau immuno-électrophorétique d'un sérum de sujet atteint de loase en présence de l'antigène Ascaris suum.

C2.4: L'ELECTROSYNERESE:

a/- Principe et applications:

L'Electrosynérèse utilise le champ électrique qui, au cours d'une électrophorèse provoque la migration des gamma-globulines en direction de la cathode et le déplacement de l'antigène en sens contraire; Antigène et anticorps sont déposés dans deux lignes de trous parallèles. Le courant est appliqué perpendiculairement aux lignes de trous; Par une disposition appropriée on fait converger antigènes et anticorps, et les zones de précipitation apparaissent sous forme d'arcs. La révélation de la spécificité peut être confirmée par l'identité de l'arc du sérum testé avec l'arc du sérum de référence.



Dernière née des méthodes d'analyse immunologiques des helminthiases, l'électrosynérèse a été décrite par BUSSARD en 1959; Les appellations varient selon les auteurs: "Immunodiffusion" ou "Co-électrosynérèse" (GENTILINI), "High voltage immuno-electro-osmophoresis" (PRINCE, 1970), "Counter-immunoelectrophoresis" (GOCKE, 1970), "Counter-current electrophoresis" (KAGAN, 1974).

Cette technique est utilisée dans la détection des anticorps précipitant les antigènes migrant peu ou pas dans les gels d'agarose, dans la détection ou la recherche de l'antigène Australia (Pr. SAWADA, Japon), dans le diagnostic de l'amibiase au Mexique (SEPULVEDA et coll. 1971), dans le diagnostic de l'échinococcose en Argentine, en Uruguay et au CHILI (TORRES et coll., 1973).

GENTILEINI, NIEL et PINON (1972) ont appliqué l'électrosynérèse au diagnostic de la bilharziose et l'hydatidose, avec les antigènes Schistosoma mansoni et liquide hydatique; Ces auteurs constatent que:

-l'électrosynérèse est une technique très sensible aux conditions de conservation du sérum;

-la qualité des résultats dépend en partie de la tension appliquée aux bornes;

-la consommation d'antigène est très faible par rapport aux techniques de précipitation en agarose;

-la reproductibilité est satisfaisante;

b/- Matériel:

-sérum: non concentré

-antigènes testés: Ascaris (extrait total, liquide mésentérique, organes génitaux); cet antigène est sous forme lyophilisée et solubilisé juste avant l'emploi;

-équipement:

générateur

micropipettes

bandes Cellogel

cuves pour migration

agitateur de Kline

boîtes hermétiques

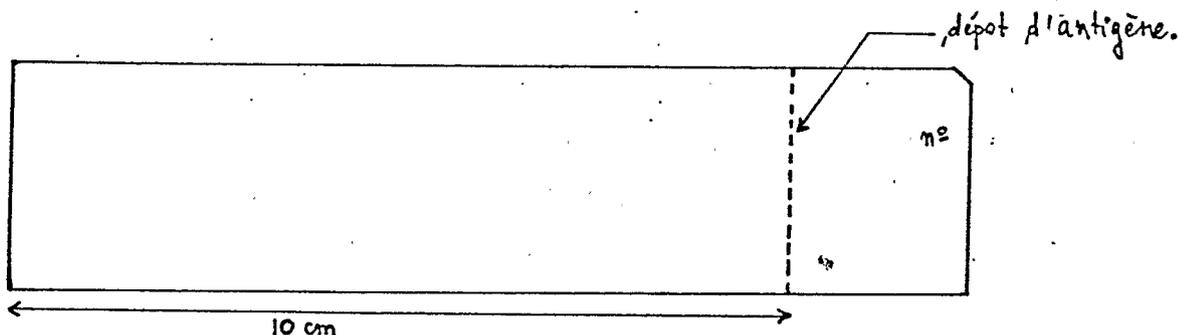
c/- Mode opératoire:

-antigène: 60 microgrammes repris dans 30 microlitres d'eau bidistillée.

-cuves de migration: 125 ml de tampon de migration (le même qu'en immunoelectrophorèse) dans chaque compartiment de la cuve.

-bandes: après 30mn d'imprégnation dans le tampon de migration, elles sont essorées entre deux épaisseurs de papier filtre en pressant rapidement de la main. La bande ne doit plus avoir de tampon à sa surface et ne doit pas blanchir à l'air.

Chaque bande est marquée (numéro, lieu de dépôt de l'antigène et du sérum).



Après l'essorage, les bandes sont immédiatement placées sur le portoir de la cuve de migration;

Position des bandes: x portoir dans le sens de la largeur face au manipulateur.

x bandes coins coupés en haut à droite.

x tendre les bandes et placer les pinces de chaque côté du portoir pour les maintenir.

x placer le portoir dans la cuve en respectant les polarités.

-dépot de l'antigène: au point repéré de la bande, côté pôle négatif; x placer, perpendiculairement à la bande, la règle à la hauteur de la position repérée;

x à l'aide d'une pipette, déposer l'antigène (30 microlitres en deux prises de 15); la pointe de la pipette est tenue verticalement et on lui fait suivre (tout en expulsant la solution d'antigène) la règle sur la largeur de la bande; on s'applique pour obtenir un trait fin et régulier.

Recouvrir la cuve: prémigration de 10 mn sous 75V; arrêt du générateur pour le dépot des sérums.

-dépot des sérums: face au dépot de l'antigène, à 1,5cm-2cm du point repéré, côté pôle positif, en forme de goutte (15 microlitres); nous avons pu ainsi déposer trois sérums par bande.

-migration: 2heures sous 100V;

-lavage des bandes:

x premier: dans une solution de Teepol à 1%;

x deuxième: dans le tampon de lavage (30 mn); pour un meilleur lavage, on découpe les bandes pour ne garder que l'essentiel (sans oublier de reporter le coin coupé en haut à droite et le numéro correspondant).

-coloration (5mn)

-décoloration (3 bains successifs de décolorant)

-conservation temporaire dans de l'eau distillée.

-lecture sous une lampe en évitant la dessiccation des bandes.

N.B. Les tampons de migration et lavage, le colorant et le décolorant sont les mêmes qu'en Immunoélectrophorèse.

IV. - RESULTATS:

A- PARASITOLOGIE:

Sur les 203 sujets prélevés, 149 sont porteurs de microfilaries, soit un indice microfilarien de 73,40%;

Selon le sexe, il y a :

67 porteurs de microfilaries sur 92 hommes, soit un indice de 72,82%.

82 porteurs de microfilaries sur 111 femmes, soit un indice microfilarien de 73,87%.

Donc les 3/4 de la population prélevée sont porteurs de microfilaries les femmes étant légèrement plus infestées que les hommes; la différence d'infestation n'est cependant pas significative entre les deux sexes.

Tableau I: Répartition des sujets, variation de l'indice microfilarien et de la densité microfilarienne selon les villages.

T=total; M=hommes; F=femmes;

Villages	sujets examinés			avec mf			sans mf			indice mf	densité mf
	T	M	F	T	M	F	T	M	F		
I	17	5	12	8	2	6	9	3	6	47,06%	18,76
2	15	8	7	11	6	5	4	2	2	73,33%	79,46
3	8	4	4	7	4	3	1	0	1	87,5%	102,12
4	21	10	11	13	8	5	8	2	6	61,90%	91,80
5	17	10	7	10	6	4	7	4	3	58,82%	125,52
6	7	1	6	6	1	5	1	0	1	85,71%	116,86
7	14	6	8	11	5	6	3	1	2	78,57%	70,86
8	20	10	10	17	9	8	3	1	2	85,00%	123,95
9	20	6	14	20	6	14	0	0	0	100,00%	249,80
10	21	10	11	15	8	7	6	2	4	71,43%	105,14
11	10	5	5	7	3	4	3	2	1	70,00%	147,80
12	10	4	6	7	2	5	3	2	1	70,00%	111,5
13	23	13	10	17	7	10	6	6	0	73,91%	146,70
Total....	203	92	111	149	67	82	54	25	29	73,40%	109,84

De ce tableau, il ressort que:

- l'indice microfilarien varie fortement d'un village à l'autre (47% à Pendjama, 100% à Bédara); il en est de même pour la densité microfilarienne.

- l'évolution de la densité microfilarienne n'est pas toujours parallèle à celle de l'indice microfilarien exemples: Pendjama: indice microfilarien (47%) plus élevé que la densité microfilarienne (18,76).

Kouman: indice microfilarien (58,8%) moins élevé que la densité microfilarienne (125,52).

FAIN et coll., 1974, expliquent cette dissociation du fait de l'inégalité dans la distribution des vecteurs: "un vecteur peu abondant mais uniformément réparti pourrait agir plus fortement sur le pourcentage d'infestation que sur la densité microfilarienne; au contraire la présence d'un vecteur abondant mais localisé et affectant plus fortement une partie de la population du village (dans ce village même ou à distance sur les lieux de travail) pourrait provoquer une augmentation de la densité microfilarienne chez les sujets parasités sans élévation parallèle du pourcentage d'infestation."

Tableau 2: Variation de l'indice microfilarien et de la densité microfilarienne en fonction des tranches d'âges.

Ages	examinés			avec mf			sans mf			indice mf			densité mf
	T	M	F	T	M	F	T	M	F	T	M	F	
0-4	31	14	17	6	2	4	25	13	12	19,35	14,3	23,53	1,71
5-9	45	17	28	23	9	14	22	8	14	51,1	52,9	50	20,13
10-14	21	10	11	16	6	10	5	3	2	76,2	60	91	46,43
15-19	14	8	6	12	7	5	2	1	1	85,7	87,5	83,3	88,43
20-29	25	10	15	25	10	15	0	0	0	100	100	100	175,2
30-39	32	15	17	32	15	17	0	0	0	100	100	100	153,44
40+	35	18	17	35	18	17	0	0	0	100	100	100	281,86
Total	203	92	111	149	67	82	54	25	29	73,4	72,8	73,8	109,8

D'après ce tableau, l'infestation est faible (densité microfilarienne = 1,71) mais très précoce (indice microfilarien = 19,35%) chez les jeunes

enfants de 0 à 4 ans; Au delà de 20 ans, tous les sujets sont pratiquement atteints (indice microfilarien 100%). La densité microfilarienne augmente avec l'âge (on note cependant une légère baisse dans la tranche 30-39 ans); cette progression paraît logique car Onchocerca volvulus a une vie très longue (10 à 15 ans) chez l'hôte vertébré et cela permet une accumulation chez les sujets vivant en zones d'endémie.

Tableau 3: Valeur de l'infestation microfilarienne (nombre de microfilaries par snip).

Nbre de mf	0	I-10	II-50	5I-100	10I-200	20I-500	500+
Nbre de S	54	17	39	29	28	29	7
%/N1	26,6	8,4	19,2	14,3	13,8	14,3	3,5
%/N2		11,4	26,2	19,5	18,8	19,5	4,7

S=nombre de sujets correspondant à la "tranche microfilarienne".

%/N1=pourcentage par rapport au nombre total de sujets (203).

%/N2=pourcentage par rapport au nombre de sujets microfilariens.

-Le nombre maximal de sujets porteurs de microfilaries s'observe dans la tranche II-50 mf par snip.

Tableau 4: Porteurs de kystes.

Sur les 203 sujets, 109 sont porteurs de kystes, répartis comme suit:

Nbre de kystes	0	1	2	3-4	5-6	7-8	9-10 et plus
Nbre de sujets	94	39	28	26	6	7	3
%/nbre de sujets	46,3	19,2	13,8	12,8	3	3,5	1,5
%/nbre de porteurs		35,8	25,7	23,9	5,5	6,4	2,75

- La majorité des sujets avec kystes n'en ont qu'un seul.

Tableau 5: Résumé de la situation parasitologique en considérant les tranches d'âges 0-14 ans(enfants) et +15 ans(adultes).

âges	Nbre de sujets	%d'onchocerquiens	indice mf	densité mf	I.K.
0-14	97	51,5	46,4	19,13	26,8
+15	106	99,05	98,1	192,87	79,2
TOTAL	203	76,4	73,4	109,84	54,2

onchocerquien= tout sujet porteur de mf et/ou de kyste.

I.K.= indice kystique(cf indice microfilarien).

- Sur les 203 sujets, 37 (soit 18,2% de la population examinée) sont porteurs d'atteintes oculaires; d'une manière générale, ce sont les sujets adultes qui sont atteints, le nombre de lésions oculaires augmentant avec la densité microfilarienne.

- Il y a 52 sujets porteurs de D.perstans, dont 48 cas associés à O.volvulus.

KNÜTTGEN et BÜTTNER (1969) proposent de mesurer le parasitisme d'une population par O.volvulus en se basant, non plus sur l'indice microfilarien global, mais sur l'indice Al 50 qui représente le plus jeune groupe d'âge dans lequel au moins 50% des sujets sont porteurs de microfilaries; dans notre étude, cet indice se situerait dans la tranche 5-9 ans.

Figure 1:

Variation de l'indice mf en fonction des villages.

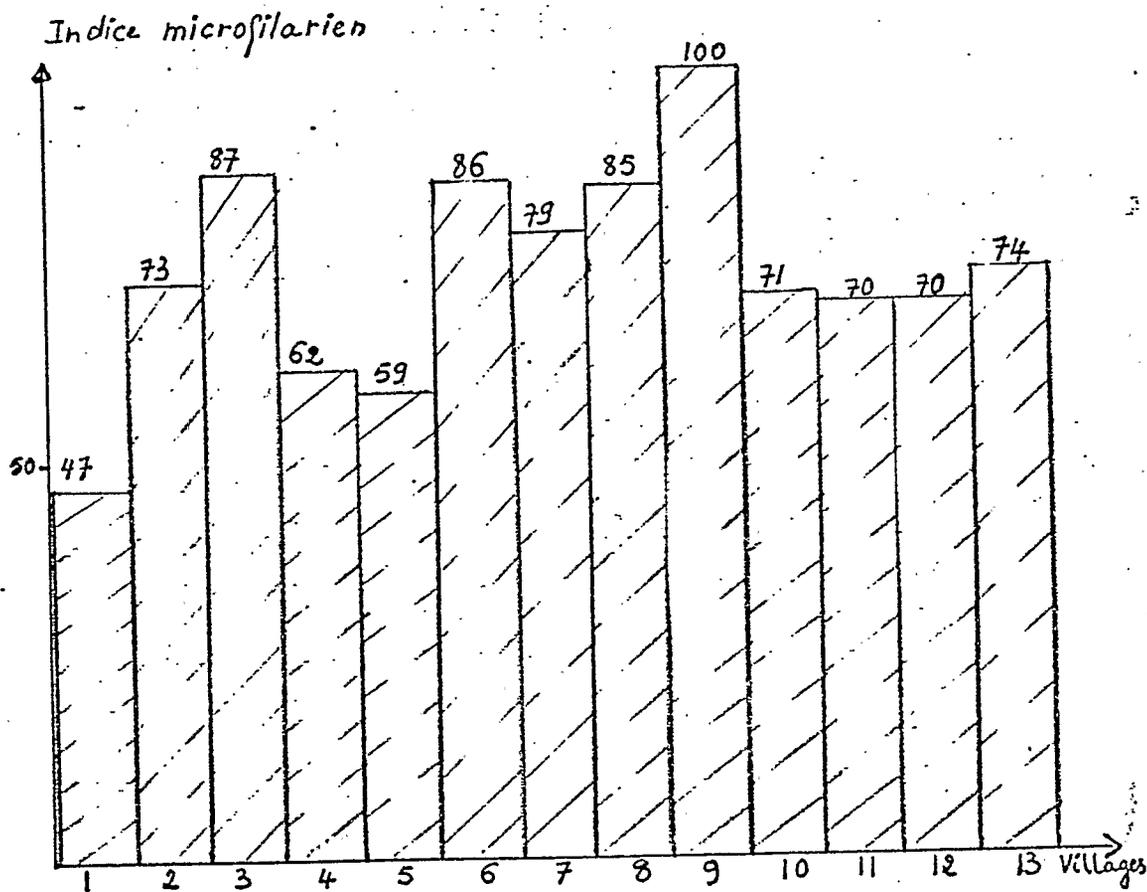
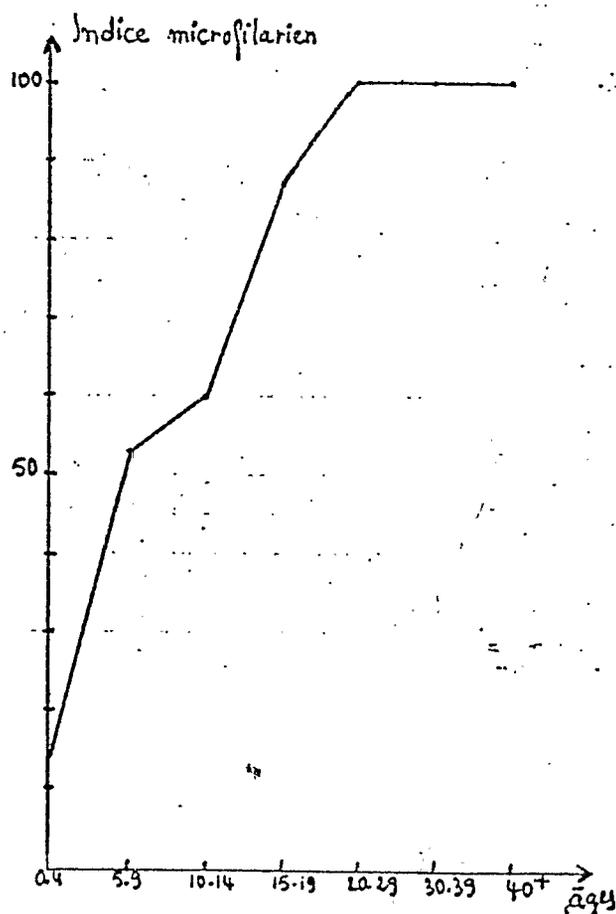


Figure 2: Variation de l'indice microfilarien en fonction de l'âge;



B- SEROLOGIE:

BI: Immunofluorescence indirecte: 1. f. I.

Etat parasitologique des sujets <i>- parasit</i>	Nbre	Sérologie			
		Séro +		-	
		N	%	N	%
sujets positifs (onchocerquiens)	155	110	71	45	29
sujets négatifs	48	12	25	36	75

en moins avec sero
en plus au sero

Sur les 204 sérums, 123 ont répondu à des dilutions égales ou supérieures à 1/200, soit une positivité de 60,29%. (la réaction est considérée comme positive à partir de la dilution 1/200).

LUCASSE et coll., 1962, 1963, trouvent une positivité de 84% en testant des sérums d'onchocerquiens face à l'antigène O. volvulus;

TEN-EYCK, 1973, dans une enquête sur l'onchocercose en Ethiopie retrouve (avec l'antigène O. volvulus) 94% de réponses positives en I.F.I. chez les 150 sujets à biopsie positive et 8,4% de réponses positives chez les sujets à biopsie négative.

WERY et coll., 1976, dans une enquête sur l'onchocercose au Zaïre, retrouvent 68% de réponses bien positives (contre 22% de réponses faiblement positives) en I.F.I. chez 303 sujets parasitologiquement positifs; ces auteurs emploient également un antigène homologue (constitué par une suspension d'oeufs embryonnés + quelques fragments de filaires adultes).

Dans notre étude, l'antigène est hétérologue (D. viteae) et nous retrouvons des positivités de 71% chez les sujets onchocerquiens et 25% chez les sujets parasitologiquement négatifs.

A travers la littérature sur l'immunologie des filarioses en I.F.I. les taux de positivités avec les antigènes homologues varient selon les auteurs et le type de filariose; d'après MOREAU, 1974, ces taux sont élevés pour WONG et coll., 1969 (100% avec les microfilaires de B. malayi) OGUNBA, 1972 (92% avec les microfilaires de Loa-loa); taux faibles pour WOODRUFF et coll., 1968 (0% avec les microfilaires d'O. volvulus), JAYEWARDENE et coll., 1968 (23% avec les microfilaires de W. bancrofti).

Des trois observations citées plus haut et en fonction de nos

résultats, nous pouvons conclure (tout au moins pour l'onchocercose) à un taux de positivité plus grand avec l'antigène homologe.

L'Immunofluorescence indirecte est une technique rapide, facile à exécuter, consommant peu d'antigène et de sérum. Les erreurs seraient de l'ordre de 10% par défaut et 2% par excès.

De nombreux auteurs ont essayé de l'appliquer à des enquêtes séro-épidémiologiques, mais cette technique ne permet qu'un diagnostic de groupe (ce qui ne facilite pas le problème en zones tropicales où les helminthiases sont multiples); La "spécificité" est également fonction des seuils établis par les auteurs.

Fig.3: Répartition des taux de réponses.

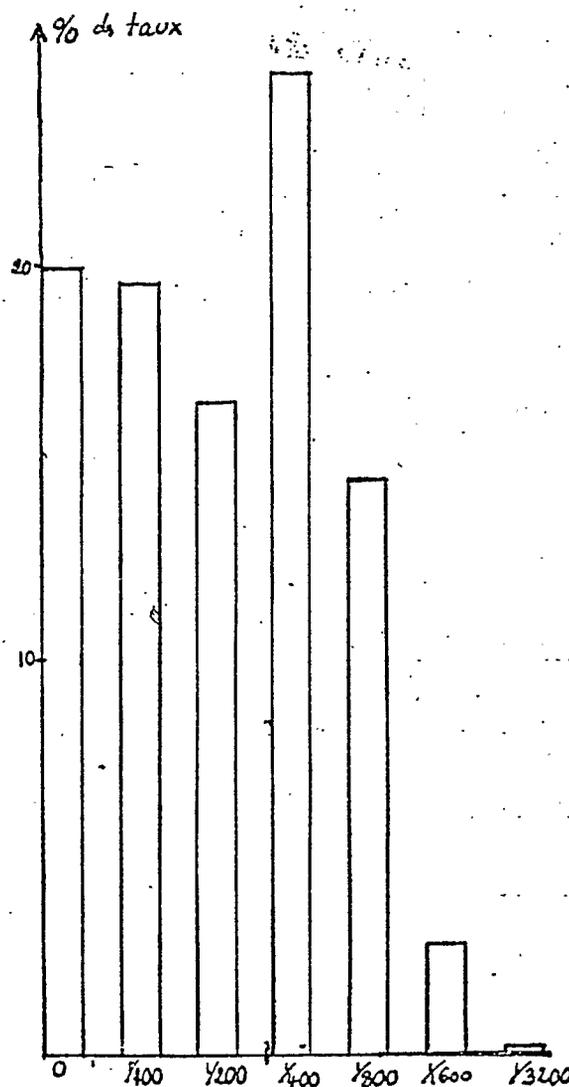
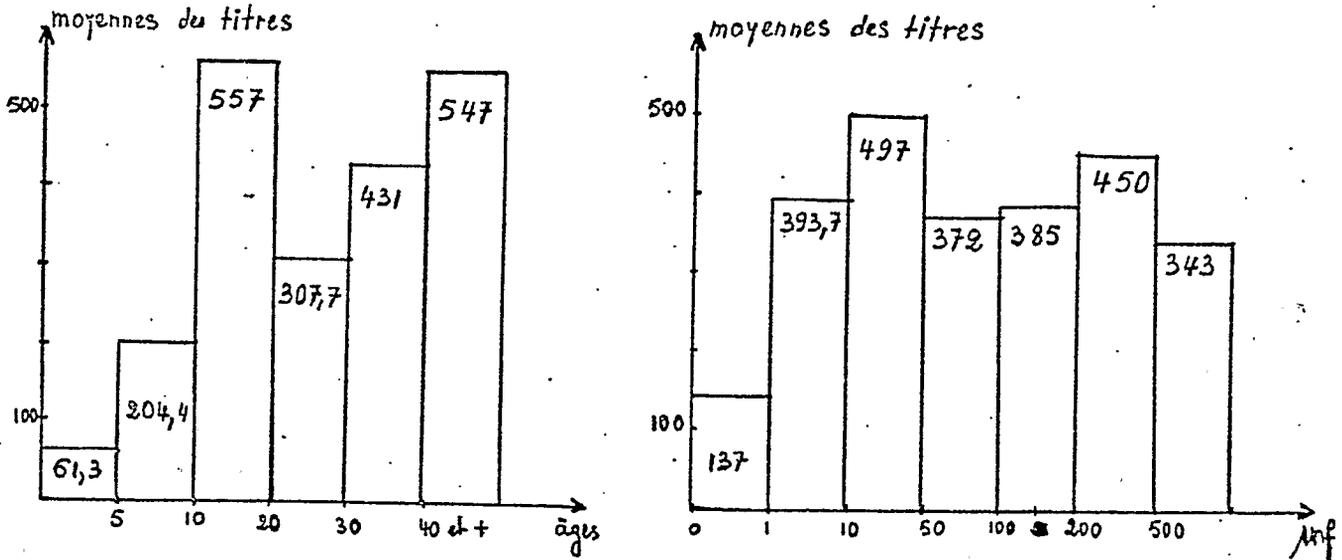


Fig.4: Relation entre le taux d'anticorps fluorescents et

a/ l'âge

b/ le taux de microfilaries



a/ le taux d'anticorps augmente rapidement jusqu'à l'âge de 20 ans, et diminue.

b/ il semble y avoir relation entre les titres en I.F.I. et le taux de microfilaries jusqu'à la valeur de 50mf/snip.

La microfilarodermie étant fonction de l'âge, il nous paraît logique que ces deux schémas aient le même aspect général.

B2: Immunodiffusion:

I.D.

Etat parasitologique des sujets	Nbre	Sérologie			
		+		-	
		N	%	N	%
sujets positifs	155	79	51	76	49
sujets négatifs	48	2	4,16	46	95,83

Sur les 204 sérums, 81 ont "répondu", soit un taux de positivité de 39,70%; Ces résultats sont faibles par rapport à ceux des auteurs cités plus haut.

Bien que cette technique soit assez limitée, elle offre actuellement une approche satisfaisante du diagnostic des filarioses.

B3: Immunoélectrophorèse: A. I. E.

Etat parasitologique des sujets	Nbre	Sérologie			
		+		-	
		N	%	N	%
sujets positifs	155	86	55,48	69	44,52
sujets négatifs	48	7	14,58	41	85,42

Sur les 204 sérums, nous trouvons un taux de positivité de 45,59%; cette technique, la seule spécifique dont on dispose actuellement est longue à exécuter (6 à 7 jours). Les premiers essais de l'immunoélectrophorèse sur acétate de cellulose sont encourageants et on peut espérer disposer d'une méthode plus rapide dans un proche avenir.

B4: Electrosynérèse:

Tous les sérums ont été "passés" contre l'antigène Ascaris-extrait total; avec cet extrait, nous avons pu "sortir" un arc spécifique de l'onchocercose en testant des sérums onchocerquiens confirmés; dans nos résultats cet arc a été le plus fréquent. Nous avons également obtenu d'autres types d'arcs qui sont soit des arcs de groupe, soit des arcs onchocerquiens qui n'avaient pas de correspondance avec nos sérums de référence.

-arcs "totaux": 104 sur 204, soit 51% de réponses positives;

-arcs spécifiques: 85 sur 204, soit 41,87% de réponses positives.

Etat parasitologique des sujets	Nbre	Sérologie			
		+		-	
		N	%	N	%
sujets examinés positifs	155	75	48,39	80	51,61
sujets négatifs	48	10	20,83	38	79,17

Dans la littérature, nous n'avons trouvé aucune référence sur l'E.S. des filarioses; même pour les autres parasitoses, les résultats

publiés par bon nombre d'auteurs restent souvent fragmentaires et ne portent que sur de très faibles échantillons (sauf GENTILINI et coll., 1973).

L'électrosynérèse présente de nombreux avantages: rapidité d'exécution, faible consommation d'antigène et d'anticorps, équipement peu encombrant; nos résultats nous paraissent satisfaisants, mais il faudrait continuer les investigations pour mieux préciser la notion de spécificité et les autres paramètres.

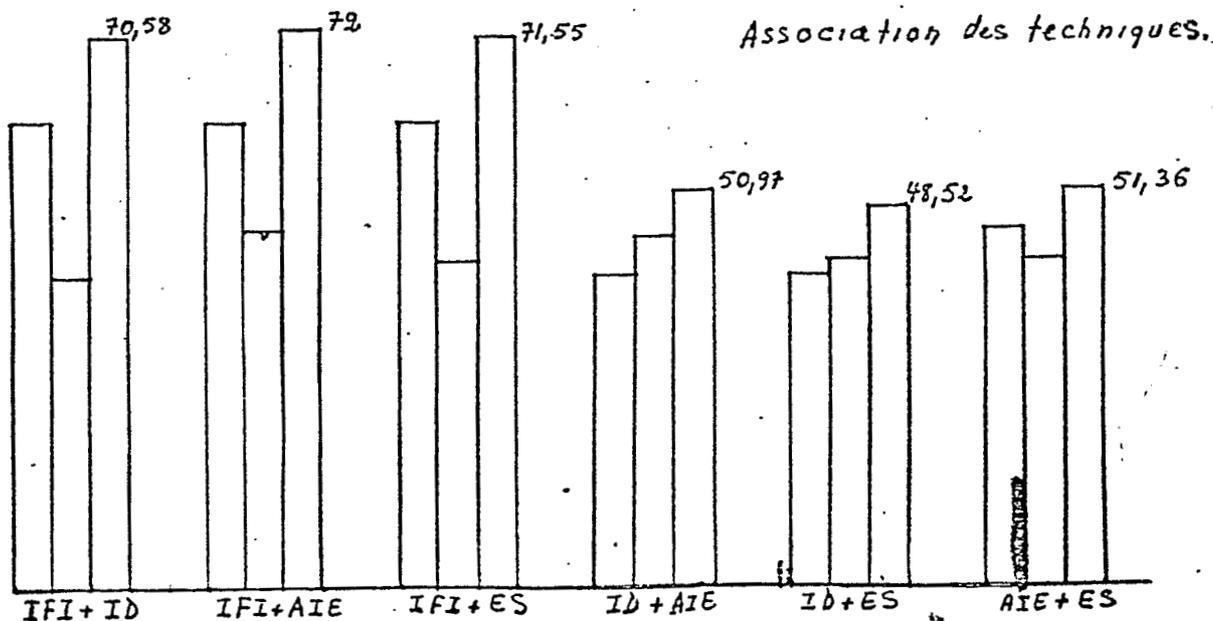
B5: Comparaison et Association des 4 techniques explorées:

Tableau 6: Sérologie globale.

Techniques	Sérologies(+) en %	Sérologies(-) en %
I.F.I.	60,29	39,70
I.D.	39,70	60,29
A.I.E.	45,59	54,41
E.S.	41,67	58,33

Cette sérologie globale montre que l'I.F.I. est la meilleure technique sur le plan quantitatif, et l'A.I.E. la meilleure sur le plan qualitatif.

Figure 5: Association des techniques deux à deux.



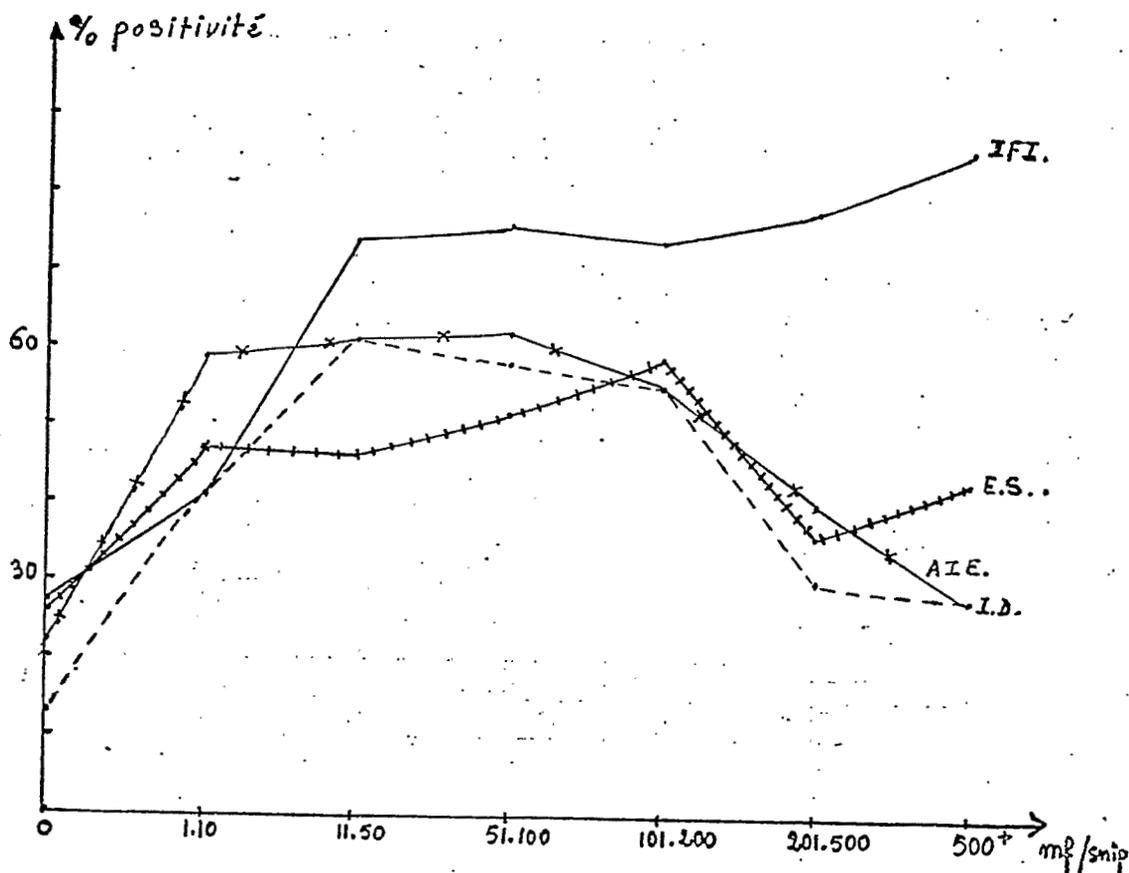
Par le calcul des concordances et des discordances, l'association I.F.I.-A.I.E. est celle qui donne les meilleurs résultats (72% de sérologies positives); d'où l'intérêt d'associer autant que possible plusieurs techniques comme l'ont déjà suggéré GENTILINI et coll., 1972(c).

Compte tenu des avantages que nous reconnaissons à l'électrosynérèse et du faible écart-type (1,41) entre cette technique et l'immunoélectrophorèse, nous avons retenu l'association I.F.I.-E.S.;

Tableau 7: Sérologie en fonction de l'intensité de l'infestation.

Nbre de mf	Nbre de sujets	Sérologie en I.F.I.I.				Sérologie en E.S.			
		+		-		+		-	
		N	%	N	%	N	%	N	%
0	54	15	27,8	39	72,2	13	24	41	75,9
I-10	17	7	41,2	10	58,8	8	47	9	53
II-50	39	28	71,8	11	28,2	17	43,6	22	56,4
5I-100	29	22	75,8	7	24,1	17	58,6	12	41,4
10I-200	27	21	77,8	6	22,2	16	59,3	11	40,8
20I-500	30	23	76,7	7	23,3	11	36,7	19	63,3
500 ⁺	7	6	85,7	1	14,3	3	42,9	4	57,1

Figure 6: Positivité des sérologies en fonction de la charge mf.



L'intensité de l'infestation microfilarienne semble influencer la nature des réponses sérologiques (positives ou négatives), mais pas l'importance de la réaction. En effet, le pourcentage des sérologies positives augmente avec la charge microfilarienne en I.F.I. et passe par un maximum (50-200 mf) en précipitation (E.S., I.D., A.I.E.); alors que la corrélation entre la charge microfilarienne et la valeur des titres en I.F.I. ou le nombre d'arcs en précipitation n'est pas évidente; toutefois, en I.F.I., nous avons signalé (fig. 4) une évolution parallèle entre titres et charge microfilarienne jusqu'à la valeur de 50mf/snip.

Tableau 8: Pourcentage des sérologies positives dans les différentes tranches d'âges chez les sujets positifs.

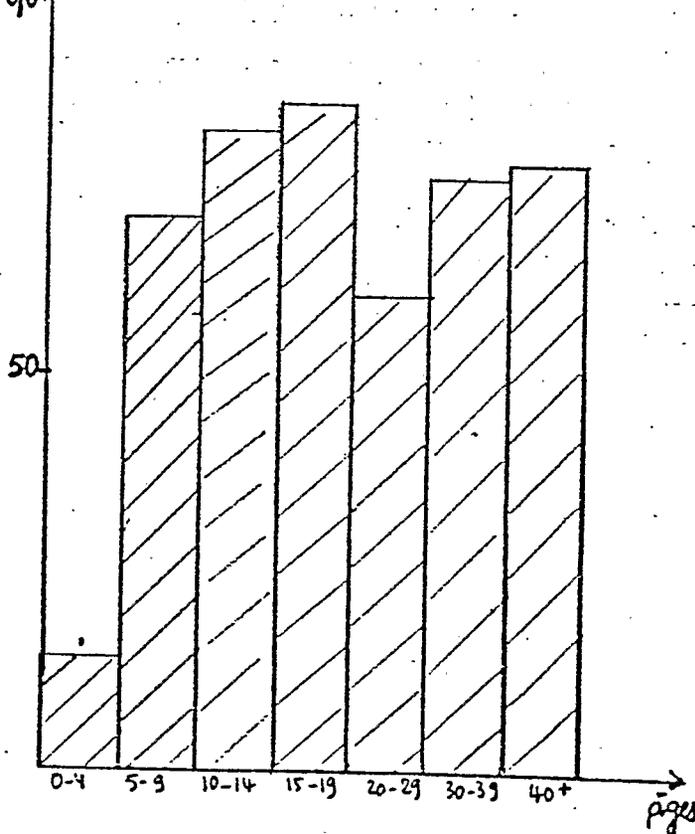
ages(ans)	0-4	5-9	10-14	15-19	20-29	30-39	40 ⁺
Nbre total	31	45	21	14	25	32	35
Sujets positifs	7	27	16	13	25	32	35
<u>I.F.I.</u>	14,3	70,4	81,2	84,6	60	75	77,1
% sérologie (+)	(1)	(19)	(13)	(11)	(15)	(24)	(27)
<u>E.S.</u>	0	51,9	75	92,3	40	37,5	42,9
	(0)	(14)	(12)	5(12)	(10)	(12)	(15)

sujets positifs=sujets onchocerquiens;

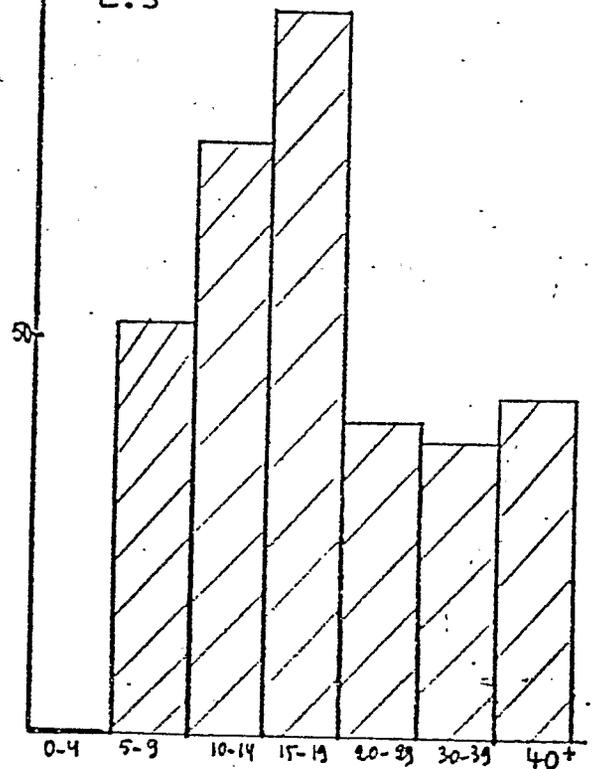
()=nbre de sérologies positives dans la tranche d'âges considérée;

Figure 7:

Sérologie(+) chez
% des sujets (+)
I.F.I



% sérologies (+) chez
des sujets (+)
E.S



Dans les deux cas, le maximum des sérologies positives chez les sujets onchocerciens est observé dans la tranche d'âge 10-19 ans. Le taux d'anticorps semble donc monter rapidement jusqu'à l'âge de vingt ans et diminue ensuite.

Sérologie et sujets parasitologiquement négatifs (48 cas):

Techniques	I.F.I.	I.D.	A.I.E.	E.S.
Nbre de sujets récupérés.	12	2	7	10
Pourcentage	25,00	4,16	14,58	20,83

En considérant les sujets récupérés par l'électrosynérèse, le nombre total d'onchocerciens passe de 155 à 165, soit 81,20% de la population prélevée.

V- CONCLUSION:

a/ Parasitologie:

La densité microfilarienne donne une bonne idée de la masse microfilarienne en circulation, donc du degré global de l'infestation; mais cet indice peut être influencé par la présence d'individus hyperinfestés et ^{on} obtient alors des valeurs parfois trop élevées, surtout si le nombre de sujets examinés est peu important comme c'est le cas dans cette étude; Nous pensons que l'indice microfilarien par fines tranches d'âges est plus fiable, surtout dans un programme de lutte. Toujours dans cette optique, nous estimons plus logique de considérer séparément chaque village, plusieurs facteurs extrinsèques (couvert végétal, climat local, proximité d'un cours d'eau) pouvant influencer la distribution du vecteur et l'épidémiologie de l'endémie. *la maladie*

b/ Sérologie et diagnostic:

Pour le clinicien, les tests immunologiques sont souvent précieux dans le diagnostic des affections parasitaires surtout à leur stade d'invasion, devant une hyperéosinophilie sanguine élevée, dans les localisations viscérales (abcès amibien du foie), lors d'impasses parasitaires ou pour suivre l'évolution des anticorps après traitement. La positivité des réactions couplées est alors un argument catégorique.

Les principales critiques qu'on peut faire aux différentes méthodes d'investigations immunologiques restent l'actuelle rareté d'antigènes homologues en quantité suffisante, la longueur d'exécution de certains tests spécifiques, l'absence d'unités ou de seuils de références internationales adoptés par tous les laboratoires (en effet, actuellement il ne serait pas surprenant que différents laboratoires analysant un même sérum donnent des résultats contradictoires); Grâce aux efforts qui sont faits on peut espérer un jour arriver à une production suffisante et à une commercialisation des antigènes homologues, ainsi qu'à l'introduction d'unités internationales (tel est déjà le cas de la toxoplasmose) par le biais de l'Organisation Mondiale de la Santé.

c/ Sérologie et enquête épidémiologique:

L'intérêt de la sérologie en épidémiologie dépend de la rapidité, de la spécificité, de l'aspect quantitatif et de la simplicité pratique

des techniques. C'est dans ce but qu'il est intéressant d'associer les techniques quantitatives type immunofluorescence indirecte ou hémagglutination à des techniques de précipitation plus spécifiques mais qui souffrent de temps d'exécution trop longs et de lourdeur technique. Les techniques de précipitation pourraient être améliorées dans la mesure où la gélose est abandonnée au profit de support solide type acétate de cellulose qui permet un diagnostic plus rapide.

La spécificité des réactions dépend de la qualité des fractions antigéniques utilisées. Nous avons pratiqué nos réactions de précipitation contre des extraits antigéniques d'Ascaris suum; cet antigène bien qu'éloigné des Nématodes homologues a l'intérêt de pouvoir être produit en grande quantité et de donner en analyse immunoélectrophorétique des systèmes précipitants dont la spécificité en faveur de l'onchocercose est bien connue. Le travail se poursuit actuellement sur des antigènes homologues (nodules onchocerquiens et filaires de Médine) et hétérologues plus proches des filaires humaines qu'A. suum (Litomosoides carinii, Dipetalonema viteae, Dirofilaria immitis et Brugia pahangi). Au point de vue des techniques utilisées, nous pensons poursuivre le travail par la mise au point d'une technique d'analyse immunoélectrophorétique sur membrane d'acétate de cellulose et coupler les réactions d'immunofluorescence à des réactions d'hémagglutination.

Par ailleurs, la mise au point récente d'une technique utilisant des anti-gammaglobulines marquées par des produits radioactifs et fixées sur des antigènes stabilisés sur support plastique (technique de Durty tubes) devrait permettre de doser les antigènes en plus des anticorps circulants.

Les études sérologiques sur des sujets jeunes seraient intéressantes à développer car c'est de la comparaison des résultats sérologiques sur les tranches d'âges les plus jeunes avant et après une campagne d'éradication qu'on pourra juger de l'efficacité de celle-ci.

Pour l'homme de terrain que nous sommes appelés à être, il n'y a pas de doute que l'examen direct reste aujourd'hui le moyen le plus rapide et le plus précis; mais les risques d'erreurs par défaut persistent, malgré le perfectionnement des différents procédés d'examen. Le test immunologique en révélant les faibles porteurs (dans la présente étude l'électrosynérèse permet de récupérer 10⁶ onchocerquiens

sur les 48 sujets négatifs à l'examen direct) devient l'inséparable complément d'étude, surtout dans un cadre opérationnel:

examen direct + test immunologique = résultats meilleurs

d/ Remarques générales:

- Nos résultats d'ensemble sont inférieurs à ceux obtenus par la plupart des auteurs; La nature de l'antigène (hétérologue), l'état des sérums (conditions d'expédition, manoeuvres de congélation-décongélation) et surtout notre inexpérience de ces manipulations longues et délicates ont sans doute influencé nos résultats.

- La présence de D.perstans, seule ou associée à O.volvulus n'a pas influencé les résultats, tant en précipitation qu'en immunofluorescence; cette observation rejoint l'hypothèse selon laquelle la filariose à D.perstans est une infection à sérologie faible. Plusieurs auteurs entre autres NIEL et coll., 1972(a), BRUMPT et coll., 1972, ont en effet signalé ce phénomène.

VI- BIBLIOGRAPHIE:

AMBROISE-THOMAS(P.):

Etude séro-épidémiologique de 10 parasitoses par les techniques d'immunofluorescence.

Thèse Doct. Sci.n° Lyon 1969.

AMBROISE-THOMAS(P.):

Immunological Diagnosis of Human Filariases: present possibilities, difficulties and limitations.- a review-;

Acta Trop., 1974, 31, 2:109-128. Trop.Med.

AMBROISE-THOMAS(P.):

Application of the indirect fluorescent antibody test on sections of adult filariae to the serodiagnosis, epidemiology and post-therapeutic surveillance of human filariases.

Ann. trop. Med. Parasitol., 1974, 68, 4:435-452.

AMBROISE-THOMAS(P.):

Etude critique des procédés diagnostiques, parasitologiques et immunologiques des filarioses humaines.

Ann. Soc. belge Méd. trop. 1975, 55, 5:497-504.

BACH(J.F.):

Immunologie.

Flammarion Médecine Sciences 1976; Masson éd.

BIGUET(J.), HAUSSY(d'.R.), CAPRON(A.), TRAN VAN KY(P.) et AUBRY(M.):

Les antigènes d'Onchocerca volvulus. I- Etude immunoélectrophorétique préliminaire.

Bull. Soc. Path. exot., 1962, 55; 845-855.

BIGUET(J.), HAUSSY(d'.R.), AUBRY(M.) et ROSE(F.):

Etude des anticorps précipitants chez les sujets atteints d'onchocercose.

Bull. Soc. Path. exot., 1964, 57; I098-III6.

CAPRON(A.), BIGUET(J.) et VERNES(A.):

Structure antigénique des helminthes; aspects immunologique des relations hôte-parasite.

Path. et Biol., 1968(a), 16, 121.

CAPRON(A.), GENTILINI(M.) et VERNES(A.):

Le diagnostic immunologique des filarioses. Possibilités nouvelles offertes par

l'immunoélectrophorèse.

Path. et Biol., 1968(b), 16, 1039-1045.

CAPRON(A.):

Diagnostic immunologique des helminthiases.

Monographie SPECIA. Pathologie tropicale 3. 1976.

COUDERT(J.), AMBROISE-THOMAS(P.), KIEN-TRUONG(T.) et TERRENO(S.):

Diagnostic sérologique des filarioses par immunofluorescence sur coupes de Dirofilaria immitis et Dipetalonema viteae. Résultats préliminaires portant sur 200 examens.

Bull. Soc. Path. exot., 1968, 61, 435-441.

DRAPER(C.C.):

The use of counterimmuno-electrophoresis in immunodiagnosis.

Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.-Meeting of December 1975, 93-97.

DENHAM(D.D.):

The Diagnosis of filariasis.

Ann. Soc. belge Méd. trop., 1975, 55, 5: 517-524.

FAIN(A.), ELSEN(P.), WERY(M.) et MAERTENS(K.):

Les filarioses humaines au Mayumbe et dans les régions limitrophes (République du Zaïre). Evaluation de la densité microfilarienne.

Ann. Soc. belge Méd. trop., 1974, 54, 1: 5-34.

GENTILINI(M.), PINON(J.M.) et NIEL(G.):

Immunoélectrodifusion sur membrane d'acétate de cellulose: application en parasitologie. - à propos des résultats préliminaires sur 600 essais -.

Bull. Soc. Path. exot., 1972(a), 65, 1: 60-66.

GENTILINI(M.), PINON(J.M.), RAFFIER(G.) et NIEL(G.):

Résultats d'une étude sérologique de 356 sujets atteints de Dracunculose explorés par la technique d'immunofluorescence indirecte.

Bull. Soc. Path. exot., 1972(b), 65, 1: 103-111.

GENTILINI(M.), PINON(J.M.), NIEL(G.) et DANIS(M.):

Etude comparée des réactions de précipitation et d'immunofluorescence indirecte dans le diagnostic des filarioses.

Bull. Soc. Path. exot., 1972(c), 65, 6: 849-858.

GENTILINI(M.), PINON(J.M.) et DANIS(M.):

Diagnostic biologique des filarioses humaines.

Méd. Mal. infect., 1973, 3, 8-9; 351-353.

GENTILINI(M.), DANIS(M.) et RICHARD-LENOBLE(D.):

Les Filarioses.

Monographie SPECIA.. Pathologie tropicale 2, 1974.

HARPEY(J.P.):

Immunologie.

Monographie BEHRING. *Sote ?*

KAGAN(I.G.):

A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis.

J. Parasit., 1963, 49, 5: 773-798.

KAGAN(I.G.):

Advances in the Immunodiagnosis of Parasitic Infections.

Z. Parasitenk., 1974, 45: 163-195.

KAEUFFER(H.), CARME(B.) et LAIGRET(J.):

Intérêt de l'Hémagglutination passive et perspectives en matière de filariose lymphatique.

Bull. Soc. Path. exot. - à paraître -

KOHN(J.) and KAHAN(M.):

Countercurrent immunoelectrophoresis on cellulose acetate.

J. Immunological methods, 1976, II, 303-309.

LUCASSE(C.) and HOEPPLI(R.):

Immunofluorescence in onchocerciasis.

Z. Tropenmed. Parasit., 1963, 14: 262-269.

MOREAU(J.P.):

Progrès récents dans le diagnostic immunologique des filarioses humaines.

Arch. Inst. Pasteur Madagascar 1974, 43/I.

MULLER(R.), MAGENDANTZ(M.), FAKHRI(O.), SUTER-KOP(V.):

Studies on the serological diagnosis of onchocerciasis in relation to clinical findings.

Third Inter. Congr. of Parasitol., Munich 1974.

NIEL(G.),GIDEL(R.),COUTURE(J.),PINON(J.M.),BRENGUES(J.) et GENTILINI(M.):

Etude d'un extrait antigénique de la filaire Setaria labiatopapillosa en Double-diffusion et en Immunoélectrophorèse appliquée au diagnostic immunologique des filarioses.

Méd. Mal. infect.,1972(a),2,5:193-202.

NIEL(G.),GENTILINI(M.),COUTURE(J.),PINON(J.M.) et DANIS(M.):

Application des extraits antigéniques d'Ascaris suum au diagnostic des filarioses en Double-diffusion; Valeur comparée à celle des antigènes Onchocerca volvulus et Dipetalonema viteae.

Bull. Soc. Path. exot.,1972(b),65,4:569-580.

NOSSAL(V.G.J.):

Destin des antigènes et induction de l'immunité.

Triangle 1972,12,3:185-193.

Organisation Mondiale de la Santé:

Immunologie et maladies parasitaires.

Série rapports techniques Org. mond. Santé n°359.

OGUNBA(E.O.):

Serological investigation with Loa-loa antigens.

J. Helminthol.,1972,46,3:241-250.

OUDIN(J.):

Méthode d'analyse immunochimique par précipitation spécifique en milieu gélifié.

C.R.Acad.Sci.Paris 1946,222,115.

DRIHEL(T.C.)and MOORE(P.J.):

Loa-loa:experimental infection in two species of african primates.

Am. J. Trop. Med. Hyg.,1975,24,4:606-609.

PINON(J.M.) et GENTILINI(M.):

Intérêt de l'utilisation du Teepol dans les réactions d'immunofluorescence indirecte en vue de l'élimination des réactions croisées dans le diagnostic des filarioses.

Bull. Soc. Path. exot.,1972,65,2:306-308.

PETITHURY(J.),BRUMPT(L.C.) et BAHNO(M.):

Etude des possibilités diagnostiques sérologiques de l'onchocercose par Double-diffusion avec des antigènes hétérologues.

Ann. Parasit. hum. comp.,1973,48,2:343-350.

RODHAIN(F.) et RODHAIN-REBOURG(F.):

Importance des filarioses animales en pathologie humaine.

Méd. trop., 1975, 35, 4:267-273.

ROITT(Y.):

Immunologie. - Mécanismes essentiels.

SIMEP-éd. 1975.

SOILLEUX(M.):

Contribution au diagnostic immunologique de la loase: utilisation d'antigène homologe Loa-loa.

Thèse Doct. Méd. n° 106, Paris 1972.

TEN EYCK(D.R.):

Comparison of biopsy and fluorescent antibody staining techniques for the detection and study of onchocerciasis in an Ethiopian population.

Am. J. Epidemiol., 1973, 98, 4:283-288.

WEIR(M.D.):

Application of Immunological methods.

Blackwell Scientific Publications. 2nd Edition, OXFORD 1973.

WEY(M.), MAERTENS(K.), WERY-PASKOFF(S.) et FAIN(A.):

Contribution à l'étude de l'infestation par Onchocerca volvulus dans la région de Lusambo (Kasaï oriental, Zaïre). Aspects parasitologiques, ophtalmologiques et immunologiques.

Ann. Soc. belge Méd. trop., 1976, 56, 2:65-72.

Comparaison entre parasitologie et sérologie:

examen parasitologique	examen I.F.I. des mêmes fractions		résultats soumis à discussion		
	nombre	séro.(+)	séro.(-)	nombre	%
positifs	<u>155</u>	<u>110</u>	45	45	29 (1)
négatifs	<u>48</u>	12	<u>36</u>	12	25 (2)

x- sont soulignés, les résultats qui vont dans le même sens.

(1): pourcentage de sérologie défailante, le "parasite" ayant été bien mis en évidence par l'examen parasitologique;

(2): pourcentage de sérologie positive chez les sujets négatifs; hypothèses de discussion:

- insuffisance de la parasitologie (temps de séjour du prélèvement cutané dans le sérum physiologique trop court).

- absence de microfilaires (ponte inhibée, parasite d'un seul sexe, ou parasites rares).

- sérologie faussement positive (due à la nature hétérologue de l'antigène).

N.B. Cette discussion reste valable pour les autres techniques sérologiques (I.D., A.I.E., E.S.).

Nous n'avons retenu que l'I.F.I. car c'est elle qui donne des résultats proches de ceux obtenus par l'examen direct et c'est également elle qui a souvent été envisagée dans des enquêtes séro-épidémiologiques.

Examen total des 203 sujets

positifs en parasito.	positifs en I.F.I.	différence
155	122	33
76%	60%	16%