



SERODIAGNOSTIC DE L'ONCHOCERCOSE PAR MICRO-ELISA
ETUDE DE 450 SERUMS ET COMPARAISON AVEC L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE¹

par

Pierre Ambroise-Thomas, Christine Daveau et Pierre T. Desgeorges²

Table des matières

	<u>Pages</u>
1. INTRODUCTION	2
2. MATERIEL ET METHODES	2
2.1 Les sérums	2
2.2 Test ELISA	2
2.2.1 Les antigènes	2
2.2.2 Réalisation du test	3
2.3 Immunofluorescence indirecte	3
3. RESULTATS ET DISCUSSION	3
3.1 Choix de l'antigène	3
3.2 Détermination des seuils de positivité et de spécificité	4
3.3 Etude de sérums d'onchocerquiens confirmés ou de sujets vivant en zone d'endémie onchocerquienne	5
3.4 Relations entre les résultats sérologiques et la densité microfilarienne	5
4. CONCLUSION	6
REMERCIEMENTS	6
SUMMARY	6
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	7
TABLEAUX	8

¹ Travail réalisé avec l'aide financière de l'Organisation mondiale de la Santé.

² Laboratoire de Parasitologie et Pathologie exotique, Faculté de Médecine, Université de Grenoble, 38700 La Tronche, France.

1. INTRODUCTION

Toutes les techniques immunologiques ont été utilisées pour le diagnostic de l'onchocercose (Kagan, 1963) : intradermoréaction et réaction de fixation du complément (Le Bras et al., 1977), double diffusion en gélose et immunoelectrophorèse (Biguet et al., 1962, 1964; Niel et al., 1972), hémagglutination indirecte (Rose et al., 1966; Ten Eyck, 1973; Tériaki et al., 1978), immunofluorescence indirecte (Ambroise-Thomas, 1975; Ambroise-Thomas & Kien Truong, 1974; Lucasse, 1962). Jusqu'ici, c'est cette dernière méthode qui demeure sans conteste la plus utilisée, notamment dans le cadre d'études séroépidémiologiques de l'onchocercose.

Dernièrement, les réactions immuno-enzymologiques (ELISA ou "enzyme-linked immunosorbent assay"), largement utilisées dans le domaine parasitologique (Bout et al., 1975; Ljungstrom et al., 1974; Voller, 1976; Voller et al., 1975) ont été appliquées à l'onchocercose par Bartlett et Bidwell (1975) avec un antigène homologue extrait d'Onchocerca volvulus et avec différents antigènes hétérologues. Dans l'ensemble, les résultats obtenus ont été jugés assez décevants par les auteurs, notamment en raison d'une purification insuffisante de l'antigène homologue.

Cependant, compte tenu des différents avantages qu'offre le test ELISA, il était justifié de poursuivre les investigations. C'est ce que nous avons réalisé à partir de différents antigènes homologues préalablement purifiés.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1 Les sérums

L'étude a porté sur :

- 90 sérums de sujets à biopsies cutanées exsangues (BCE) positives, originaires du Cameroun (58 malades) et du Mali (32 malades) et pour lesquels nous connaissions précisément la valeur de la microfilarodermie;
- 233 sérums de sujets résidant en zone d'endémie onchocerquienne (Mali);
- 171 sérums négatifs, dont 66 prélevés chez des sujets africains indemnes d'onchocercose et 105 recueillis chez des Européens n'ayant pas effectué de séjour outre-mer;
- 56 sérums de sujets, européens ou africains, atteints de différentes parasitoses, autres que l'onchocercose.

2.2 Test ELISA

2.2.1 Les antigènes

On a utilisé trois réactifs antigéniques différents :

a) Antigène brut (antigène I)

Il a été préparé selon la technique de Rose et al. (1966) quelque peu modifiée : recueillis après dissection de nodules onchocerquiens humains,¹ les onchocerques sont lavés dix fois dans de l'eau physiologique, congelés en milieu isotonique, puis lyophilisés. Le lyophilisat est d'abord broyé mécaniquement au mortier avec du sable puis réhydraté par de l'eau distillée, une nuit à +4°C. On effectue ensuite sur la suspension obtenue une sonication.² Après centrifugation réfrigérée, le surnageant constituera l'antigène brut ou fraction I.

¹ Nodules obtenus après ablation thérapeutique (nodulectomie) à l'Institut d'Ophtalmologie africaine (IOTA de Bamako, Mali), immédiatement placés dans une solution saturée de sulfate d'ammonium et conservés à -20°C jusqu'à leur emploi.

² Appareil MSE : sonication de 30 mn avec une amplitude de 10 μ sous courant liquide.

b) Antigène délipidé (antigène II)

Une partie de la fraction I est délipidée par l'éther (aa) à +4°C; cette opération est réalisée dans une ampoule à décanter et est répétée cinq fois de suite avant le recueil de la phase aqueuse.

c) Antigènes purifiés (antigènes Ic et IIc)

Les extraits d'Onchocerca volvulus obtenus à partir de nodules recueillis au cours de nodulectomie peuvent toujours contenir des protéines d'origine humaine. L'élimination de ces protéines a été réalisée, à partir des fractions I et II, par chromatographie d'affinité. Pour cela, on utilise une colonne à chromatographie¹ remplie de Sépharose IV activée au bromure de cyanogène et préalablement couplée à un immunosérum anti-humain.² Techniquement, 15 g de Sépharose 4 B - CN BR sont mis à gonfler dans une solution NaCl 10⁻³M puis lavés dans cette solution et dans du tampon bicarbonate 0,1 M contenant 0,5 M de NaCl (pH 9,6). Le couplage avec l'immunosérum est réalisé par agitation par retournement pendant une nuit à +4°C. On effectue alors trois cycles de lavages successivement dans du tampon acétate 0,1 M pH 4 et dans du tampon borate 0,1 M pH 8 contenant 1 M de NaCl. Le remplissage de la colonne a lieu en une nuit à +4°C avec du tampon phosphate 0,1 M à 9°/oo de NaCl (pH 7,2). Pour la purification, l'antigène onchocercarien est d'abord dialysé contre du tampon phosphate identique au précédent puis il est passé sur la colonne de chromatographie avec un débit de 8 ml/heure. L'éluat est récupéré par fractions successives.

2.2.2 Réalisation du test

Le test de micro-ELISA est effectué suivant la technique d'Ambroise-Thomas et Desgeorges (1978) avec des concentrations d'antigène et de conjugué³ déterminées par titrage en damier.

Les sérums sont testés à la dilution de 1/80 choisie après des études préalables.

Après addition du substrat chromogène, l'orthotolidine, la lecture des résultats est effectuée à 630 nm⁴ directement dans les plaques de microtitration. Avec les volumes de réactifs utilisés, les densités optiques (DO) ainsi obtenues sont mesurées sur un trajet optique de 3 mm et non pas de 1 cm qui constitue la norme habituelle. Pour être rendus comparables à ceux des autres études, souvent réalisées avec un trajet optique de 1 cm, nos résultats devraient donc être multipliés par 3,33. Ce mode de calcul est rendu acceptable par la quasi-linéarité des valeurs de DO pour des trajets optiques allant de 3 à 10 mm.

2.3 Immunofluorescence indirecte

Tous les sérums de sujets atteints ou suspectés d'onchocercose ont été testés par immunofluorescence indirecte (IFI) sur des coupes à la congélation d'O. volvulus suivant la technique d'Ambroise-Thomas (1969).

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Choix de l'antigène

Chacune des quatre fractions antigéniques disponibles a été étudiée à différentes concentrations (5, 10, 20, 30, 40 et 50 µg de protéines par ml) face à deux sérums d'onchocercariens et à un sérum négatif de référence. On a ainsi déterminé à 20 µg/ml la concentration optimale pour ces antigènes.

¹ Colonne K 15/30, Pharmacia.

² Immunosérum de cheval anti-sérum humain normal, Institut Pasteur, lot N° 73132.

³ Sérum de chèvre anti-IgG humaines marquées à la peroxydase. Miles, lot N° 469.

⁴ Spectrophotomètre Vernon PHI 5.

Par ailleurs, ces antigènes peuvent être au départ souillés par des protéines humaines provenant de la paroi des nodules onchocerciens. Fixées sur le polystyrène des plaques de microtitration, ces protéines humaines peuvent réagir dans le dernier temps de la réaction avec les conjugués anti-immunoglobulines humaines. Il en résulte des réactions non spécifiques comme celles qu'ont observées Bartlett et Bidwell (1975). C'est pourquoi nous avons vérifié l'efficacité de la délipidation et surtout de la chromatographie d'affinité dans la purification des antigènes en faisant réagir directement ces antigènes face à des conjugués anti-IgG humaines. Pour cela, on a effectué une série de réactions témoins dans lesquelles les sérums humains positifs ou négatifs sont remplacés par du tampon phosphate (PBS à pH 7,2).

Les résultats (tableau 1) montrent qu'il existe un important "bruit de fond" avec les antigènes non chromatographiés, délipidés ou non (antigènes I ou II). Des réactions non spécifiques sont également observées avec l'antigène chromatographié mais non délipidé (antigène Ic). En revanche, la délipidation et la chromatographie assurent une négativité presque parfaite des contrôles (antigène IIc).

3.2 Détermination des seuils de positivité et de spécificité

Ils ont été fixés par l'étude d'un lot de sérums négatifs (tableau 2) et d'un ensemble de sérums hétérologues (tableau 3) dilués à 1/80.

Pour la détermination du seuil de positivité, les sérums d'Africains apparemment indemnes de toute affection fournissent, dans l'ensemble, des DO plus élevées que celles des sérums d'Européens. Cette différence est confirmée statistiquement.¹ Cette observation tient sans doute au fait que les patients africains sont exposés, plus que les Européens, à de multiples parasitoses et en particulier à des nématodoses. De façon presque inévitable, la plupart au moins de nos patients devaient présenter des antécédents d'helminthiases à vers ronds ayant laissé des stigmates sérologiques pouvant expliquer des réactions non spécifiques.

Pour l'ensemble des 171 contrôles pratiqués, les DO n'ont été trouvées supérieures à 0,2 que dans six cas : trois sérums d'Africains (0,20, 0,20 et 0,21) et trois sérums d'Européens (0,20, 0,20 et 0,26). Cette dernière valeur (0,26) ne semble pas devoir être retenue car le sérum a peut-être été recueilli par erreur chez un patient parasité. En définitive, la plus forte valeur observée avec les sérums témoins négatifs est de 0,21. En y ajoutant le risque d'erreurs maximum (0,02) apporté par l'antigène utilisé, c'est au total la limite de 0,23 qui constitue le seuil de positivité du test.

L'étude des réactions croisées (tableau 3) n'a révélé de résultats non spécifiques qu'avec les helminthiases à vers ronds et avec l'hydatidose et l'échinococcose alvéolaire. Pour les différents nématodes, l'existence de fractions antigéniques communes est un fait bien établi qui a permis, par exemple, l'utilisation d'antigènes extraits d'*Ascaris suum* dans le sérodiagnostic des filarioses et notamment de l'onchocercose (Prost & Prod'hon, 1978). Les sérums de loase ont tous donné des résultats fortement positifs, ce qui confirme la très grande homogénéité antigénique des diverses filaires parasites de l'homme et par conséquent la difficulté d'obtenir des résultats réellement spécifiques d'une filariose donnée. Dans la détermination du seuil de spécificité, nous n'avons pas tenu compte de ces trois résultats.

Les parasitoses à trématodes n'interfèrent pas dans le test et les valeurs maximales observées ont toutes été inférieures au seuil de positivité. Par contre, l'existence de fortes réactions croisées avec l'hydatidose et l'échinococcose alvéolaire peut apparaître comme surprenante. Cependant, une observation similaire a pu être faite par Ambroise-Thomas et al. (1978) par l'étude en micro-ELISA de sérums de filariens (loase) vis-à-vis d'antigènes solubles d'*Echinococcus granulosus*. D'ailleurs, Biguet et al. (1964) ont montré la présence de fractions antigéniques communes à *O. volvulus* et à *E. granulosus*.

¹ Le test du χ^2 a été calculé en considérant les DO $< 0,10$ (10 chez les Africains et 90 chez les Européens) et d'autre part, les DO égales ou $>$ à cette valeur (respectivement 56 et 15). La différence est très significative avec $p > 0,001$.

A l'issue de ces contrôles, nous avons retenu comme seuil de spécificité du test une DO de 0,40 correspondant à la valeur maximum des DO observées avec les sérums hétérologues (loases exclues) majorée du risque d'erreur maximum de 0,02 lié à l'antigène.

3.3 Etude de sérums d'onchocerciens confirmés ou de sujets vivant en zone d'endémie onchocercienne

Quatre-vingt-dix sérums de sujets atteints d'onchocercose confirmée (BCE positive) ont été parallèlement étudiés en IFI et par le test de micro-ELISA (tableau 4). Pour 13 de ces sérums, les deux tests ont été négatifs et c'est seulement pour 19 des 47 sérums positifs au 1/20 ou au 1/40 en IFI que le test ELISA a été positif. Dans l'ensemble, le pourcentage global de positivité est d'ailleurs assez faible : 85,5 % pour l'IFI et 80,2 % pour le test ELISA, surtout si l'on tient compte que, pour cette dernière réaction, 49 sérums seulement sur 90 (53,3 %) dépassent le seuil de spécificité ($DO > 0,40$). Ce manque de sensibilité du test est peut-être dû au fait que les 90 sérums étudiés étaient conservés sous forme congelée depuis plusieurs mois et que certains d'entre eux avaient subi deux décongelations ou plus avant d'être étudiés en ELISA.

Pour les 233 sérums prélevés en zone d'endémie et n'ayant subi qu'une seule décongelation (tableau 5), 172 ont été trouvés positifs par les deux méthodes, sept sérums négatifs en IFI sont positifs en ELISA et, inversement, trois sérums faiblement positifs en IFI (1/20) sont négatifs en ELISA. Bien que les antigènes employés soient très différents, les deux réactions conduisent à des pourcentages globaux de positivité très voisins (75,1 % pour l'IFI et 76,8 % en ELISA). Cependant, sur le plan quantitatif (niveau de positivité exprimé par la valeur des DO en ELISA ou par les titres d'anticorps fluorescents), il faut souligner que dans l'ensemble le test ELISA paraît supérieur à l'IFI puisque 137 sérums sur 233 (58,8 %) sont fortement positifs par le premier de ces tests alors qu'en IFI, le chiffre est seulement de 78 positivités élevées sur 233 (33,5 %). Sur le plan pratique, cette constatation apparaît comme essentielle étant donné les difficultés d'interprétation des résultats sérologiques faiblement positifs dans l'onchocercose.

3.4 Relations entre les résultats sérologiques et la densité microfilarienne

Pour 32 sujets, on connaissait précisément la densité microfilarienne obtenue à partir des BCE. Les résultats sérologiques en IFI et par le test de micro-ELISA sont rapportés dans les tableaux 6 et 7. Dans un cas comme dans l'autre, il n'a pas été observé de différences significatives (test du χ^2) entre les différents résultats sérologiques rapportés à la densité microfilarienne. Dans les filarioses à microfilarodermie, la réponse sérologique apparaît donc comme indépendante du nombre de microfilaraires présentes, contrairement à ce qui a été observé dans les filarioses à microfilarémie (Ambroise-Thomas, 1975).

Précisément, une goutte épaisse a pu être pratiquée chez 22 des patients à BCE. La recherche des microfilaraires sanguicoles a été positive dans 12 cas (dix porteurs de Dipetalonema perstans et deux sujets parasités par Wuchereria bancrofti).

Le sérodiagnostic des filarioses n'étant généralement pas spécifique d'une espèce, nous avons tenté de voir, avec les antigènes employés, si les anticorps décelés par les deux techniques sérologiques, face aux antigènes O. volvulus, avaient une relation avec la présence de microfilaraires sanguicoles (tableaux 8 et 9). Pour cela, on a considéré les résultats sérologiques fortement positifs (titres supérieurs ou égaux à 1/80 en IFI et $DO > 0,40$ en ELISA) en fonction de la présence ou de l'absence de microfilarémie. En IFI, les résultats apparaissent comme statistiquement très significatifs (test du χ^2 modifié par Yates, $p < 0,001$). Il existe donc ici une corrélation négative entre les titres d'anticorps fluorescents et la microfilarémie.

Les résultats sont tout à fait différents en ce qui concerne le test ELISA pour lequel la différence n'est pas statistiquement significative. Ceci pourrait traduire une meilleure spécificité pour l'onchocercose de l'antigène employé.

4. CONCLUSION

Le test ELISA apparaît donc comme applicable au sérodiagnostic de l'onchocercose s'il est réalisé avec des antigènes homologues suffisamment purifiés et en particulier débarrassés de protéines d'origine humaine.

Des réactions croisées peuvent être observées avec les diverses nématodoses - et tout particulièrement les autres filarioses - ainsi qu'avec l'hydatidose. Les résultats semblent néanmoins suffisamment reproductibles pour qu'il soit possible de fixer une limite de spécificité qui, dans nos conditions expérimentales, correspond à une DO de 0,40.

Le test de micro-ELISA conduit à un pourcentage global de positivité (proportion de sérums positifs quels que soient les titres) sensiblement identique à celui de l'IFI. Cependant, la plus grande sensibilité de la méthode ELISA conduit, dans l'ensemble, à des résultats quantitativement plus élevés et d'interprétation par conséquent moins difficile.

Avec les antigènes employés (antigènes somatiques), cette réaction n'apparaît cependant pas susceptible d'améliorer profondément le sérodiagnostic de l'onchocercose qui est, comme cela est d'ailleurs vrai pour les autres filarioses, lourdement hypothéqué par l'existence de nombreuses réactions croisées non spécifiques. En revanche, l'extrême sensibilité du test ELISA nous a permis d'envisager d'autres possibilités, en cours d'études, comme l'emploi d'antigènes onchocercariens métaboliques pour le sérodiagnostic et la détection, dans le sérum des patients, d'antigènes et non plus d'anticorps circulants.

REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement le Dr Chovet, ancien Directeur de l'IOTA, Bamako, Mali, qui a bien voulu recueillir et nous adresser les nodules onchocercariens nécessaires à la préparation de nos antigènes. Nous devons par ailleurs la presque totalité des sérums onchocercariens étudiés à l'amitié du Professeur agrégé Philippe Ranque de Bamako et du Professeur Christian Ripert de Yaoundé.

SUMMARY

The micro-ELISA test (ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay) was used in the serological study of human onchocerciasis. This study was carried out on 450 sera, and a comparison was made with the indirect immunofluorescence test. Extracts of adult Onchocerca volvulus were used as antigens; these were collected by dissecting nodules, defatting them and completely eliminating human proteins by means of affinity chromatography. In these conditions, the positivity limit of the test is excellent (with a maximum optical density of 0.02 calculated from 171 negative sera, including 66 taken from Africans). Specificity checks were carried out on 56 heterologous sera and cross-reactions were observed only in cases of hydatid disease and, in particular, various kinds of nematode infection including loiasis. For the reagents and technical conditions used, the specificity limit of the test corresponds to an optical density of 0.40 (measured with an optical path of 3 mm). The diagnostic value of the test was checked by studying 90 sera taken from subjects with a positive skin snip and 233 sera from people living in the endemic zone. Taking all the subjects infected with parasites, the overall percentage of positive reactions to the ELISA test is no higher than that obtained using indirect immunofluorescence (85%), with which it was compared. On the other hand, this test appears to be more sensitive for detecting strongly positive serological reactions. No statistically significant negative correlation was found between the existence and extent of microfilariae in the skin (skin snip) and a positive ELISA test. Again, no correlation was observed in polyinfected patients (Onchocerca volvulus and Dipetalonema perstans or Wuchereria bancrofti) between the ELISA test results and the presence of blood microfilariae.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ambroise-Thomas, P. (1969) Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence (Thèse doctorat ès sciences, Lyon, 645 p.)
- Ambroise-Thomas, P. (1975) Etude critique des procédés diagnostiques, parasitologiques et immunologiques des filarioses humaines, Ann. Soc. belge Med. trop., 55, 497-504
- Ambroise-Thomas, P. & Desgeorges, P. T. (1978) Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une microméthode modifiée. I. Modalités techniques, Bull. Org. mond. Santé, 56, 609-613
- Ambroise-Thomas, P. & Kien Truong, T. (1974) Application of IFA on sections of adult filariae to serodiagnosis, epidemiology and post-therapeutic surveillance of human filariasis, Ann. trop. Med. Parasit., 68, 435-452
- Ambroise-Thomas, P., Desgeorges, P. T. & Monget, D. (1978) Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une microméthode modifiée. II. Résultats pour la toxoplasmose, l'amibiase, la trichinose, l'hydatidose, l'aspergillose, Bull. Org. mond. Santé, 56, 797-804
- Bartlett, A. & Bidwell, D. E. (1975) Preliminary studies on the application of the enzyme immunoassay in the detection of antibodies in onchocerciasis, Tropenmed. Parasit., 26, 370-374
- Biguet, J., D'Haussy, R., Aubry, M. & Rose, F. (1964) Etude des anticorps précipitants chez des sujets atteints d'onchocercose, Bull. Soc. Path. exot., 57, 1098-1116
- Biguet, J., D'Haussy, R., Capron, A., Tran van Ky, P. & Aubry, M. (1962) Les antigènes d'Onchocerca volvulus. I. Etude immuno-électrophorétique préliminaire, Bull. Soc. Path. exot., 55, 845-855
- Bout, D., Dugimont, J. C., Farag, H. & Capron, A. (1975) Le diagnostic immuno-enzymologique des affections parasitaires. II. Immunologie quantitative (ELISA), Lille méd., 20, 561-566
- Kagan, I. G. (1963) A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis, J. Parasit., 49, 773-778
- Le Bras, J., Duchatelle, C., Payet, M. & Savel, J. (1977) Comparaison des résultats obtenus à partir d'antigènes homologues et hétérologues dans l'étude immunologique de l'onchocercose et de la dracunculose, Bull. Soc. Path. exot., 70, 515-524
- Ljungstrom, I., Engvall, E. & Ruitenbergh, E. J. (1974) ELISA enzyme-linked immunosorbent assay - a new technique for the serodiagnosis of trichinosis. In: Proceedings of the British Society for Parasitology, Parasitology, 69, xxiv
- Lucasse, C. (1962) Fluorescent antibody test for onchocerciasis, Z. Tropenmed. Parasit., 13, 404-408
- Niel, G., Gentilini, M., Couture, J., Pinon, J. M. & Danis, M. (1972) 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., 65, 569-579
- Frost, A. & Prod'hon, J. (1978) Le diagnostic parasitologique de l'onchocercose : revue critique des méthodes en usage, Méd. trop., 38, 519-532

- Rose, G., Biguet, J., Rose, F. & D'Haussey, R. (1966) Application d'une réaction d'hémagglutination au diagnostic de l'onchocercose, Rev. Hyg. Med. soc., 14, 383-392
- Ten Eyck, D. R. (1973) Onchocerca volvulus et Wuchereria bancrofti: fluorescent antibody staining of frozen homologous sections for diagnosis, Exp. Parasit., 34, 154-161
- Teruaki, I., Isao, T. & Yoshiki, A. (1978) The indirect haemagglutination test for onchocerciasis performed with blood collected on filter paper, J. Parasit., 64, 786-789
- Voller, A. (1976) A microplate enzyme-immunoassay for Toxoplasma antibody, J. clin. Path., 29, 150-153
- Voller, A., Draper, C. C., Bidwell, D. E. & Bartlett, A. (1975) Microplate enzyme linked immunosorbent assay for Chagas' disease, Lancet, 1, 426-428

TABLEAU 1. CONTROLES DE PURETE DES DIFFERENTS ANTIGENES UTILISES
(REACTIONS TEMOINS:ANTIGENES + PBS + CONJUGUE)

Antigènes	Nombre de mesures	Densités optiques	
		Valeurs extrêmes	Moyennes
I	10	0,06-0,11	0,087
II	10	0,06-0,08	0,064
Ic	10	0,04-0,06	0,054
IIc	31	0,00-0,02	0,01

TABLEAU 2. MICRO-ELISA DANS LE SERODIAGNOSTIC DE L'ONCHOCERCOSE.
DETERMINATION DU SEUIL DE POSITIVITE

Origine ethnique	Nombre de cas	Densités optiques	
		Valeurs extrêmes	Moyennes
Africain	66	0,07-0,21	0,137
Européen	105	0,00-0,26	0,096

TABLEAU 3. CONTROLE DE SPECIFICITE : NATURE, NOMBRE ET RESULTATS DES SERUMS HETEROLOGUES ETUDIES A LA DILUTION DE 1/80

Parasitoses	Nombre de cas	Densités optiques	
		Valeurs extrêmes	Moyennes
Paludisme	7	0,00-0,06	0,04
Amibiase	6	0,04-0,09	0,06
Trypanosomiase	1		0,05
Toxoplasmose	2	0,04-0,06	0,05
Candidose	2	0,03-0,07	0,05
Aspergillose	2	0,03-0,04	0,03
Bilharziose intestinale	7	0,01-0,09	0,05
Fasciolase	3	0,14-0,21	0,18
Paragonimose	1		0,17
Taeniasis	1		0,19
Hydatidose	5	0,20-0,38	0,31
Echinococcose alvéolaire	2	0,33-0,37	0,35
Trichinose	5	0,09-0,27	0,17
Loase	3	0,38-0,70	0,51
Ascaridiose	5	0,17-0,33	0,25
Toxocarose	2	0,27-0,37	0,32
Anguillulose	2	0,26-0,26	0,26

TABLEAU 4. ETUDE DE SERUMS D'ONCHOCERCOSES CONFIRMÉES (BIOPSIES CUTANÉES EXSANGUES POSITIVES). COMPARAISON DU TEST DE MICRO-ELISA (RÉSULTATS EN DENSITÉ OPTIQUE-DO) ET DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) (RÉSULTATS EN TITRE FINAL)

ELISA \ IFI	DO < 0,23	DO 0,23 à 0,40	DO > 0,40	Total
< 1/20	13 (14,5 %)			13
1/20-1/40	3	25	19	47
1/80-1/120			30	30
Total	16	25	49	90

TABLEAU 5. ETUDE DE SERUMS DE SUJETS VIVANT EN ZONES D'ENDEMIÉ ONCHOCERQUIENNE. COMPARAISON DU TEST DE MICRO-ELISA ET DE L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI)

ELISA \ IFI	DO < 0,23	DO 0,23 à 0,40	DO > 0,40	Total
< 1/20	51	7		58
1/20-1/40	3	31	63	97
1/80-1/160		4	74	78
Total	54	42	137	233

TABLEAU 6. RELATION ENTRE LES TITRES OBTENUS EN IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) ET LES DENSITES MICROFILARIENNES (BCE)

IFI \ BCE	1-49	50-99	100-149	150-199	> 200	Total
1/20			4			4
1/40			4	3	2	9
1/80	1	3	8	3	1	16
1/160		1	2			3
Total	1	4	18	6	3	32

TABLEAU 7. RELATION ENTRE LES DENSITES OPTIQUES (DO) OBTENUES EN ELISA ET LES DENSITES MICROFILARIENNES (BCE)

DO \ BCE	1-49	50-99	100-149	150-199	> 200	Total
0,2-0,39			4	2	1	7
0,4-0,59		1	5	1	1	8
0,6-0,79	1	2	7	3	1	14
> 0,79		1	2			3
Total	1	4	18	6	3	32

TABLEAU 8. RELATION ENTRE LES TAUX SEROLOGIQUES EN IMMUNOFLOUORESCENCE INDIRECTE (IFI) ET LA PRESENCE OU NON DE MICROFILAIRES SANGUINES (W. BANCROFTI ET D. PERSTANS)

IFI \ Microfilarémie	Négative	Positive	Total
	1/20-1/40	0	9
1/80-1/160	10	3	13
Total	10	12	22

TABLEAU 9. RELATION ENTRE LES DENSITES OPTIQUES (DO) EN ELISA ET LA PRESENCE OU NON DE MICROFILAIRES SANGUINES (W. BANCROFTI ET D. PERSTANS)

DO \ Microfilarémie	Négative	Positive	Total
	0,23 à 0,40	0	4
> 0,40	10	8	18
Total	10	12	22

= = =