

REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE SUR COUPES DE FILAIRES ADULTES
DANS LE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUE, L'ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE ET
LE CONTROLE POST-THERAPEUTIQUE DES FILARIOSES HUMAINES^a

par

P. Ambroise-Thomas^b et T. Kien Truong^c

Table des matières

	<u>Pages</u>
Introduction	2
1. Matériel et méthodes	3
1.1 L'antigène	3
1.2 Conjugués fluorescents	3
1.3 Réalisation	3
1.4 Lecture des tests	4
2. Résultats et discussion	4
2.1 Comparaison antigénique de <u>Dirofilaria immitis</u> et de <u>Dipetalonema viteae</u> ...	4
2.2 Contrôles de spécificité	5
2.2.1 Contrôles de spécificité face à l'antigène <u>D. viteae</u>	5
2.2.2 Contrôles de spécificité face à différents antigènes parasitaires ...	5
2.3 Valeur de la réaction dans le diagnostic sérologique des filarioses humaines	6
2.3.1 Résultats de l'immunofluorescence indirecte à partir de 647 sérums de filarioses parasitologiquement confirmées	6
2.3.2 Résultats de la réaction d'immunofluorescence par rapport aux données des examens parasitologiques	7
2.3.3 Résultats fournis par l'emploi d'antigènes spécifiques	7
2.3.4 Application de l'immunofluorescence indirecte à l'étude épidémiolo- gique des filarioses	8
2.4 Intérêt du test d'immunofluorescence dans le contrôle post-thérapeutique des filarioses	9
3. Conclusion	10
Remerciements	11
Résumé	11
Tableaux	13
Figures	25
Références bibliographiques	1

^a Travail réalisé grâce à l'aide financière de l'Organisation mondiale de la Santé.

^b Laboratoire de Parasitologie et Pathologie exotique, Faculté de Médecine de Grenoble, La Tronche, France.

^c Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Médecine, Lyon, France.

INTRODUCTION

Le diagnostic parasitologique des filarioses humaines est fréquemment mis en défaut par l'absence de microfilaires chez de nombreux malades.⁵ Depuis le début du siècle, ceci a justifié la recherche de tests séro-immunologiques susceptibles de réaliser le diagnostic indirect de ces parasitoses.

Presque toutes les techniques dont nous disposons ont été largement appliquées au domaine des filarioses. Il s'agit d'abord des tests d'hypersensibilité cutanée, utilisés par de nombreux auteurs et auxquels Sawada et coll. ont consacré de nombreuses recherches.^{31,32,33,34,35,36,37} La réaction de fixation du complément a été également très employée puisque, dans une revue d'ensemble, Kagan²¹ relevait en 1963 plus de 40 travaux effectués par cette méthode. La technique d'agglutination des particules de bentonite sensibilisées a été réalisée par Kagan et coll.,²² l'hémagglutination conditionnée étant successivement employée par Kagan et coll.,²² par Rose, Biguet et coll.,³⁰ puis par d'autres auteurs.¹⁷ Enfin, les techniques de précipitation en gélose (Ouchterlony) et d'immuno-électrophorèse ont surtout bénéficié des recherches fondamentales et appliquées de l'Ecole Lilloise de Biguet et Capron,^{6,7,8,9,12} l'électro-immunodiffusion sur membrane d'acétate de cellulose ayant été récemment proposée par Gentilini et coll.¹⁹

Dans l'ensemble, tous ces travaux se sont heurtés à des difficultés concernant l'antigène parasitaire. En effet, les tests tels que l'intradermo-réaction, la technique de fixation du complément ou les méthodes d'agglutination de particules sensibilisées sont tous exposés à des erreurs par excès liées aux nombreuses réactions croisées que l'on observe à partir des antigènes filariens. L'immuno-électrophorèse, grâce à son caractère analytique, échappe en grande partie à ce manque de spécificité. Malheureusement, cette technique exige d'assez importantes quantités d'antigènes, ce qui complique la réalisation de ce test et en limite l'utilisation sur une vaste échelle.

En partie au moins, c'est sans doute à cause de ces difficultés pratiques que l'on a tenté d'appliquer la technique d'immunofluorescence au diagnostic sérologique des filarioses. Les premiers essais ont été effectués avec, comme antigène figuré, des microfilaires entières : Chowdhury et Schiller pour les filarioses lymphatiques,¹⁰ Lucasse et Hoeppli pour l'onchocercose,^{24,25} Muller pour la dracunculose.²⁷ Par la suite, d'autres auteurs (Mantovani et Sulzer²⁶) ont utilisé des ultra-sonats de microfilaires. Enfin, Duxbury et Sadun¹⁶ ont mis au point un test d'immunofluorescence sur disques d'acétate de cellulose imprégnés d'antigènes filariens solubles.

Dans l'ensemble, ces diverses méthodes se sont également heurtées à des difficultés pratiques. En effet, les microfilaires entières ou ultra-sonnées adhèrent mal à des lames porte-objets et ne fixent qu'imparfaitement les anticorps fluorescents. Quant au SAFA, test de Duxbury et Sadun, il ramène à tous les problèmes que posent l'extraction et la purification d'antigènes filariens solubles.

Pour tenter d'échapper à ces diverses difficultés, nous avons mis au point en 1968 un nouveau test d'immunofluorescence indirecte où l'antigène figuré est constitué par des coupes à la congélation de filaires adultes.^{4,11}

Cette méthode présente d'importants avantages pratiques puisque l'antigène peut être aisément sur des lames porte-objets. Par ailleurs, chaque coupe à la congélation ne mesure que 5 μ d'épaisseur. Avec quelques parasites adultes, il est donc possible d'obtenir assez de matériel antigénique pour réaliser plusieurs milliers de tests.

Depuis quatre ans, nous utilisons régulièrement cette réaction en effectuant au moins une série de tests chaque semaine. Au total, plus de 5500 sérums humains ont été étudiés. Dans la plupart des cas, ces prélèvements nous ont été adressés à des fins diagnostiques, sans que nous puissions disposer de renseignements suffisants pour permettre l'exploitation scientifique des résultats. Nous ne considérerons donc ici que 2611 examens ayant porté sur des malades dont les observations étaient suffisamment complètes.

1. MATERIEL ET METHODES

Le détail de la technique utilisée a été présenté par ailleurs.^{4,39} Nous n'en rappellerons donc que l'essentiel.

1.1 L'antigène

Il est préparé à partir de Dipetalonema viteae adultes qui sont recueillis chez des rongeurs infestés expérimentalement. Les parasites sont lavés deux ou trois fois dans du sérum physiologique. Ils peuvent être conservés pendant plusieurs mois au congélateur à -20°C. Pour préparer les antigènes figurés, on enroule une ou deux filaires dans un fragment rectangulaire de muscle strié (paroi abdominale de lapin ou de cobaye). On réalise ainsi un cylindre dont les parasites occupent la partie axiale et qui est suffisamment volumineux (1cm de diamètre environ) pour être facilement coupé à la congélation. Ce cylindre est partagé en tronçons d'environ 1 cm de long. Ces blocs sont coupés à la congélation, les coupes de 5µ d'épaisseur étant directement déposées sur des lames porte-objets à la surface desquelles elles adhèrent par simple contact. Ces préparations antigéniques peuvent être conservées pendant au moins 14 mois à -20°C.

1.2 Conjugués fluorescents

Nous utilisons des produits de commerce (sérums fluorescents antiglobulines humaines de l'Institut Pasteur de Paris). Avant l'emploi, il est indispensable de soumettre ces conjugués à de nombreux contrôles. Il arrive en effet fréquemment qu'ils contiennent des anticorps anti-nématelminthes, dans la mesure où les animaux immunisés contre les globulines humaines sont déjà parasités par des vers ronds. Ces anticorps peuvent donner de fausses réactions positives avec les antigènes filariens. Pour chaque nouveau lot de réactifs, il faut donc vérifier que, à une dilution plus faible que sa dilution d'emploi (on choisit généralement le 1/20), le conjugué ne provoque aucune fluorescence des coupes de filaires.

Dans la mesure où ce premier contrôle est concluant, chaque conjugué est ensuite très précisément titré.^a On détermine pour cela la plus forte dilution des antiglobulines fluorescentes qui donne un titre maximum d'anticorps pour des sérums positifs et des réactions parfaitement négatives avec des sérums témoins pris à la dilution correspondant au seuil de spécificité.

1.3 Réalisation

La réaction d'immunofluorescence est effectuée suivant la technique indirecte, avec contre-coloration par le Bleu d'Evans à 1 p. 10 000. On réalise cette contre-coloration pendant la durée d'action du conjugué fluorescent : il suffit de diluer les antiglobulines marquées dans la solution de Bleu d'Evans et non pas dans du tampon phosphate.

^a Par exemple, pour le lot N° 70-161 de sérum fluorescent de lapin antiglobulines humaines (Institut Pasteur), nous utilisons la dilution de 1/37 (VIII gouttes à 1/100 ml de conjugué dans 3 ml d'une solution à 1/10 000 de Bleu d'Evans dans du tampon phosphate).

1.4 Lecture des tests

Les réactions sont lues, avec un microscope de fluorescence, à un très faible grossissement (objectif x 10). Nous utilisons un condenseur à fond clair à sec et un filtre d'émission BG 12 de 6 mm d'épaisseur.

En cas de réaction négative, les préparations sont uniformément rouges. Au contraire, si le test est positif, on observe au niveau des sections de filaires adultes une intense fluorescence jaune-verte qui est localisée au niveau de l'espace sous-cuticulaire et, de façon moins nette, en bordure de la cavité générale (fig. 1.). Dans tous les cas, le muscle strié qui entoure les parasites est coloré en rouge par le Bleu d'Evans. Sur chaque coupe, il est donc aisé de vérifier que la contre-coloration a été correctement réalisée.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Comparaison antigénique de *Dirofilaria immitis* et de *Dipetalonema viteae*

Au début de notre étude, nous avons préparé nos antigènes figurés à partir de quelques exemplaires adultes de *Dirofilaria immitis*, filaires parasites des chiens qui présentent de nombreuses communautés antigéniques avec les espèces filariennes parasites de l'homme. Malheureusement, *Dirofilaria immitis* tend à devenir de plus en plus rare, au moins en France. Ceci nous a donc rapidement conduit à préparer nos antigènes à partir de *Dipetalonema viteae* comme l'ont d'ailleurs fait différents auteurs et notamment Duxbury et Sadun ainsi que Biguet et Capron.

Au départ, il était évidemment essentiel de s'assurer que ces deux types d'antigènes figurés fournissent des résultats équivalents. C'est ce que nous avons vérifié à partir de 440 sérums humains parallèlement étudiés sur des coupes de *D. immitis* et de *D. viteae*. Dans certains cas, nous avons même utilisé des coupes de blocs où des filaires de ces deux espèces étaient disposées côte à côte.

Les sérums étudiés correspondaient à :

- 288 prélèvements réalisés chez des sujets normaux ou bien chez des malades atteints d'affections parasitaires autres que les filarioses. Tous ces sérums ont été trouvés négatifs à la dilution de 1/20.
- 152 sérums de filariens confirmés pour lesquels les résultats correspondants sont reportés dans le tableau I (tab. I). Nous n'avons jamais observé de différences significatives entre les deux antigènes filariens (variations des titres d'anticorps atteignant ou dépassant deux degrés de la gamme de dilution).

Pour 128 des 152 sérums considérés (84,2 %), les titres d'anticorps fluorescents étaient même strictement identiques.

Sur le plan pratique, ces résultats ont justifié l'utilisation de l'antigène *D. viteae* pour le reste de notre étude sérologique des filarioses humaines.

D'un point de vue plus général, ces observations confirment l'étendue des communautés antigéniques unissant les diverses filaires malgré des différences biologiques parfois importantes et une parenté zoologique assez éloignée.

2.2 Contrôles de spécificité

La spécificité de la réaction a été vérifiée de deux façons complémentaires :

- en étudiant face à l'antigène D. viteae des sérums prélevés chez des sujets sains ou bien chez des malades atteints de diverses affections parasitaires ou non;
- et, inversement, en faisant réagir des sérums de filariens confirmés sur différents autres antigènes parasitaires.

2.2.1 Contrôles de spécificité face à l'antigène D. viteae

Ils ont porté au total sur 934 sérums dont 680 ont été prélevés en France et 254 outre-mer (tableau II).

Chacun de ces échantillons sériques a été étudié aux dilutions 1/20, 1/40 et 1/80.

Pour les sérums prélevés en Europe, 98,2 % des réactions deviennent négatives à la dilution de 1/20. Seuls huit sérums ont été trouvés positifs à 1/20 ou 1/40. Ils provenaient toujours soit de sujets atteints d'une verminose à vers ronds (ascaridiose, anguillulose intestinale), soit encore de malades atteints de parasitoses (bilharzioses intestinales, paludisme, amibiase) dont les zones d'endémie recoupent partiellement les régions d'endémie filarienne. Pour ces derniers sujets, l'existence d'antécédents filariens ne pouvait donc être formellement éliminée.

En ce qui concerne les sérums prélevés outre-mer, nous avons enregistré 11,2 % de réactions positives à 1/20, 1/40 ou 1/80. Pour chacun des 254 sujets considérés, la notion d'une filariose évolutive paraissait très peu probable (absence de signes cliniques, contrôles parasitologiques négatifs au cours de plusieurs examens) mais ne pouvait être formellement éliminée. Par ailleurs, presque tous ces patients étaient des polyparasités hébergeant notamment plusieurs espèces de vers ronds (ascaris, ankylostomes, anguillules intestinales et, dans sept cas au moins, trichostrongylus).

En définitive, nous avons à l'issue de ces contrôles retenu la dilution de 1/20 comme seuil de spécificité de la réaction. Cette dilution liminaire ne correspond sans doute pas à une spécificité totale, mais les 3,6 % d'erreurs par excès auxquels elle expose apparemment constituent certainement un maximum. En effet, ces réactions "faussement positives" ne sont obtenues que chez des sujets présentant une verminose à vers ronds ou encore chez des malades pour lesquels la présence de filaires ne peut être formellement exclue.

De toute façon, il paraît presque illusoire à l'heure actuelle d'espérer atteindre une spécificité parfaite en matière de sérologie des infections à nématodes. Grâce à la facilité avec laquelle ce test est mis en oeuvre, l'intérêt principal de l'immunofluorescence dans ce domaine est précisément de permettre des contrôles très nombreux qui aboutissent à la détermination d'une dilution-seuil aussi précise que possible.

2.2.2 Contrôles de spécificité face à différents antigènes parasitaires

Soixante-sept sérums de malades atteints de diverses filarioses confirmées ont été étudiés par immunofluorescence indirecte face aux antigènes Ascaris lumbricoïdes, Strongyloïdes stercoralis, Schistosoma mansoni, Fasciola hepatica, Echinococcus granulosus et Toxoplasma gondii (tableau III).

Ces antigènes étaient constitués soit par des étalements sur lames de suspensions parasitaires (Toxoplasma gondii), soit encore par des coupes à la congélation de vers adultes (Ascaris lumbricoïdes, Schistosoma mansoni et Fasciola hepatica) ou de leurs formes larvaires (Strongyloïdes stercoralis, Echinococcus granulosus).

Aux dilutions 1/20 ou 1/40, nous n'avons observé des réactions positives que face aux trois premiers antigènes.

Ces résultats peuvent correspondre aussi bien à :

- d'authentiques réactions croisées entre des vers ronds (anticorps antifilaires et antigènes Ascaris lumbricoïdes ou Strongyloïdes stercoralis);
- des réactions spécifiques révélant une ascariidiose, une anguillulose intestinale ou une bilharziose ancienne chez les sept filariens considérés.

En définitive, ces contrôles ne nous ont pas paru devoir remettre en question la valeur du seuil de spécificité de la réaction (1/20).

2.3 Valeur de la réaction dans le diagnostic sérologique des filarioses humaines

Pour apprécier les possibilités diagnostiques du test d'immunofluorescence indirecte sur coupes de filaires adultes, nous avons étudié 989 sérums prélevés chez des malades dont la filariose était parasitologiquement confirmée (647 cas) ou bien encore chez des sujets pour lesquels des éléments épidémiologiques, cliniques et biologiques rendaient très fortement probable l'existence d'une wuchereriose, d'une loase ou d'une onchocercose.

Dans l'interprétation de nos résultats, nous avons tenu compte de l'origine ethnique des malades examinés. Ce facteur est en effet susceptible de modifier considérablement l'intensité de l'infestation filarienne et les risques de polyparasitisme. Nous avons également distingué les sérums collectés en France de ceux qui nous ont été adressés d'outre-mer.

Dans chaque catégorie ainsi déterminée, on a calculé le pourcentage d'examen positifs et les titres moyens d'anticorps fluorescents (GMRT).

2.3.1 Résultats de l'immunofluorescence indirecte à partir de 647 sérums de filarioses parasitologiquement confirmées

Pour 632 de ces malades, l'existence et la nature d'une filariose ont pu être affirmées par la découverte des microfilaires dans le sang (wuchereriose, loase, infection à Dipetalonema perstans) ou dans le suc dermique (onchocercose). Dans 15 cas, le diagnostic a reposé sur l'identification de filaires adultes dans le tissu cellulaire sous-cutané (pour les six observations de dracunculose) ou sous la conjonctive oculaire (9 des 180 observations de loases).

Les résultats des tests d'immunofluorescence sont reportés dans le tableau IV.

Dans tous les cas où ces résultats sont suffisamment nombreux pour être significatifs, la réaction d'immunofluorescence se révèle positive dans 84 à 95 % des examens. Ces chiffres sont au moins comparables sinon supérieurs à ceux que les auteurs ont pu jusqu'à présent obtenir par d'autres tests sérologiques, dans la mesure où ces réactions avaient été mises en œuvre dans des conditions optimales.

Il est par ailleurs frappant de constater à quel point les diverses filarioses, pourtant différentes du point de vue clinique et parasitologique, donnent des résultats relativement homogènes sur le plan sérologique. Pour chacune de ces affections, les pourcentages d'examen positifs de même que les titres moyens d'anticorps fluorescents gardent une valeur sensiblement comparable.

Enfin, si l'on tient compte de l'origine ethnique des malades examinés, les Européens contaminés outre-mer présentent des réactions d'immunofluorescence moins souvent et surtout moins intensément positives que celles qui sont observées chez des sujets originaires des zones d'endémie filarienne. Ces résultats correspondent très certainement à une différence de l'intensité du parasitisme et peut-être aussi de la fréquence des réinfestations.

En revanche, pour les malades originaires des zones d'endémie filarienne, nous n'avons pas enregistré de différence significative entre les prélèvements pratiqués en Europe et ceux qui nous ont été adressés d'outre-mer.

2.3.2 Résultats de la réaction d'immunofluorescence par rapport aux données des examens parasitologiques

Le diagnostic sérologique n'a évidemment d'intérêt que dans la mesure où la recherche des microfilaries s'est avérée négative. Pour déterminer la valeur de l'immunofluorescence, nous avons étudié 342 sérums de sujets pour lesquels, en l'absence de preuves parasitologiques, existaient de fortes présomptions épidémiologiques, cliniques et biologiques en faveur de filarioses à Wuchereria bancrofti, Loa loa ou Onchocerca volvulus. Dans chaque cas, les résultats correspondants ont été rapprochés de ceux qui ont été précédemment obtenus pour des filarioses du même type mais parasitologiquement confirmées (tableaux V, VI et VII).

Pour chacune des filarioses considérées, il semble exister un rapport inverse entre la présence des microfilaries et l'intensité de la réaction de l'immunofluorescence indirecte. Les pourcentages de tests positifs et surtout les titres moyens d'anticorps fluorescents sont en effet bien plus élevés pour les sujets chez lesquels on n'a pas pu retrouver de microfilaries que chez les malades dont la filariose était confirmée parasitologiquement.

Ce résultat rejoint absolument celui qu'ont obtenu Capron, Gentilini et Vernes par l'étude, en immuno-électrophorèse, de sérums de malades ou bien d'animaux d'expérience.⁸ Il serait évidemment prématuré d'en déduire que les anticorps circulants ont un pouvoir spécifiquement microfilaricide. Il semble cependant que, en très grande partie au moins, ces anticorps sont dirigés contre les stades larvaires des filaires.

Sur le plan pratique, ces faits montrent bien l'intérêt du diagnostic sérologique qui a d'autant plus de chances d'être positif que la recherche des microfilaries est vaine. Pour l'ensemble des trois filarioses considérées, les examens parasitologiques n'apportent d'ailleurs un diagnostic que dans environ 58 % des cas alors que les tests d'immunofluorescence indirecte sont positifs chez près de 90 % des malades (tableau VIII).

2.3.3 Résultats fournis par l'emploi d'antigènes spécifiques

Au total, la réaction d'immunofluorescence indirecte permet le diagnostic sérologique des filarioses avec une marge d'erreurs par défaut de l'ordre de 10 % et un risque d'erreurs par excès (réactions croisées) inférieur ou égal à 3,6 %.

Cependant, ce test ne permet que de reconnaître la présence d'une filariose sans que l'on puisse préciser la nature exacte de l'infection. En effet, des parasites non pathogènes comme Dipetalonema perstans donnent des réactions presque aussi souvent positives que les filaires réellement pathogènes (tableau IV). Ceci est d'autant plus regrettable que le traitement des filarioses par la diéthylcarbamazine entraîne certains troubles. L'indication thérapeutique ne peut donc résulter que de la confrontation des résultats sérologiques et des données épidémiologiques et cliniques.

Dans une certaine mesure, la réaction d'immuno-électrophorèse assure une précision diagnostique plus grande. En effet, même avec un antigène de groupe comme Dipetalonema viteae, l'arc majeur de l'immuno-électrophorégramme a une position différente suivant le type de filariose (Capron et coll., 1968).⁸

En ce qui concerne la réaction d'immunofluorescence, nous avons tenté d'améliorer ses possibilités diagnostiques en utilisant des antigènes filariens spécifiques. Notre expérience encore très limitée ne porte que sur 97 sérums qui ont été parallèlement étudiés face à l'antigène correspondant et face à l'antigène D. viteae (tableau IX). Vingt-neuf de ces sérums ont été simultanément testés face aux quatre antigènes D. viteae, W. bancrofti, L. loa et O. volvulus (tableau X). Pour chaque sérum ou groupe de sérums, cette étude comparative a été réalisée au cours de la même série de réactions, de façon à pouvoir apprécier avec plus de précision des variations même minimales des titres d'anticorps fluorescents.

L'emploi d'antigènes spécifiques apporte à la technique une valeur accrue (pourcentage de réactions positives et titres moyens d'anticorps fluorescents). Dans une certaine mesure, le diagnostic précis d'un type de filariose peut donc résulter de la comparaison des résultats obtenus face aux quatre antigènes considérés. Dans le cas des loases, par exemple, la réaction d'immunofluorescence est plus fortement positive avec l'antigène Loa loa qu'avec les antigènes D. viteae, W. bancrofti ou O. volvulus. Ceci n'a cependant rien d'absolu et il arrive assez fréquemment que les quatre séries de résultats soient identiques ou très comparables. Il peut alors s'agir :

- d'une infestation mixte;
- d'un parasitisme par des filaires non pathogènes;
- ou bien enfin d'authentiques réactions de groupe mettant en évidence des anticorps anti-nématelminthes. Cette dernière éventualité est surtout vraisemblable quand un sérum ne donne que des réactions faiblement positives face à tous les antigènes filariens.

2.3.4 Application de l'immunofluorescence indirecte à l'étude épidémiologique des filarioses

Pour apprécier le niveau d'endémicité des diverses filarioses humaines et tout spécialement de l'onchocercose, les méthodes sérologiques peuvent être extrêmement précieuses dans la mesure où elles n'exigent sur le terrain que la récolte d'échantillons sériques, la réalisation des tests proprement dits pouvant être différée.

De façon préliminaire, nous avons pu étudier 258 sérums provenant de trois lots de populations d'onchocercariens africains appartenant à des zones d'hypo-, de méso- ou d'hyper-endémie.^a Tous ces sérums ont été étudiés face à l'antigène D. viteae (tableau XI). Les résultats de l'immunofluorescence semblent rendre bien compte du niveau de l'endémicité onchocercarienne. Ceci apparaît nettement à propos des pourcentages de résultats positifs qui sont à 89,6 % dans les villages d'hyperendémicité et de 78 % et 66 % respectivement dans les villages de méso-endémicité et d'hypo-endémicité. Mais c'est surtout sur le plan quantitatif que ces différences sérologiques sont nettes puisque les titres moyens d'anticorps fluorescents concernant chacune de ces zones sont de 52,7, 25,9 et enfin 10,3.

Tout ceci laisse bien augurer de l'intérêt de la technique comme moyen d'enquête épidémiologique, ce que nous espérons vérifier prochainement dans des enquêtes réalisées à plus vaste échelle. Il faut d'ailleurs souligner que l'immunofluorescence présente sur les autres méthodes d'importants avantages pratiques puisqu'elle peut être effectuée à partir

^a Nous devons ces sérums à l'amabilité du Professeur André Capron de Lille.

des micro-prélèvements sanguins réalisés après piqûre au doigt.³ Ceci facilite considérablement les conditions de récolte des échantillons sanguins, leur stockage, puis leur acheminement jusqu'au laboratoire où sont pratiqués les tests sérologiques.

2.4 Intérêt du test d'immunofluorescence dans le contrôle post-thérapeutique des filarioses

Nous avons pu effectuer des tests sérologiques chez de nombreux malades traités pour diverses filarioses. Nous n'envisagerons que 27 observations pour lesquelles nous disposons d'informations suffisamment complètes et où les tests d'immunofluorescence ont pu être réalisés à trois reprises au moins, la première fois avant le début du traitement.

Tous ces malades présentaient une filariose à Loa loa traitée par la diéthylcarbamazine (Notézine*) administrée à doses très progressivement croissantes : 1/4 de comprimé par jour pendant deux jours, 1/2 comprimé par jour les deux jours suivants, puis augmentation régulière d'un demi-comprimé par jour, cette dose étant prescrite pendant 10 jours. Au total, la cure s'étend sur une période de 26 jours. Chez 23 malades, elle a été unique (tableau XII, fig. 2 et 3). Pour quatre patients, le traitement a dû être répété deux fois (cas Nos 29, 32, 43 et 77, fig. 4 et 5).

Pour diminuer l'intensité des manifestations allergiques liées au traitement par la diéthylcarbamazine, la plupart des malades ont reçu des antihistaminiques : dichlorhydrate de buclizine (Aphilan R*), trois comprimés par jour les huit premiers jours, sirop de prométhazine (Phénergan*), une cuillerée à café le soir au coucher ou bien des corticoïdes : 15 à 20 mg par jour de prednisone (Cortancyl*).

Si l'on considère dans leur ensemble les résultats sérologiques, le traitement est suivi d'une nette augmentation des titres d'anticorps fluorescents. Ce n'est qu'entre le quarantième et le septantième jour que la sérologie diminue progressivement pour se négativer après un délai plus ou moins long (fig. 2). Ce pic sérologique rappelle tout à fait celui que nous avons pu observer dans d'autres helminthiases traitées et en particulier dans les bilharzioses.⁴

Cependant, l'évolution des anticorps après traitement est beaucoup moins univoque dans les filarioses que dans les autres verminoses. Chez les filariens traités, on peut en effet observer :

- une sérologie immédiatement décroissante après traitement (cas N° 3, fig. 3);
- des titres d'anticorps inchangés et qui ne diminuent ensuite que très progressivement (cas N° 23, fig. 3);
- ou bien enfin un pic sérologique assez net (cas N° 30, par exemple, fig. 3).

Diverses raisons nous semblent pouvoir être avancées pour expliquer ces différences :

a) Il est vraisemblable que l'augmentation de la sérologie dans les helminthiases traitées est liée à la destruction des vers et à la mise en circulation d'antigènes intraparasitaires. Comme les helminthes possèdent un volume proportionnellement important par rapport à leur surface, ces antigènes intraparasitaires sont plus abondants que les antigènes de surface et leur intervention provoque un phénomène de rappel sérologique. Or, dans le cas des filarioses, la diéthylcarbamazine agit essentiellement au niveau des microfilaires tandis que les vers adultes ne sont qu'indirectement atteints.

Ces microfilaries sont des éléments de petite taille dont le rapport volume/surface est proportionnellement bien moins élevé qu'il ne l'est chez des vers comme Schistosoma mansoni. Il est donc logique que la destruction des microfilaries et la libération de leurs antigènes somatiques ne provoquent que des modifications sérologiques mineures. En fait, cette hypothèse est contredite en partie par les manifestations de type allergique qui se produisent au moment du traitement des filarioses et qui correspondent à la destruction des microfilaries (test de Mazzoti). Il nous faut donc envisager deux autres explications possibles.

b) Pour éviter précisément les troubles allergiques liés à la lyse des microfilaries, le traitement par la diéthylcarbamazine est administré à des doses très progressivement croissantes. La libération des antigènes somatiques microfilariens se fait donc graduellement, le phénomène sérologique qui en résulte est naturellement masqué en partie. A l'inverse, le pic sérologique est très net si le traitement anti-parasitaire est plus brutal. C'est ce que nous avons observé il y a quelques années chez 4 malades soumis d'emblée à une posologie de 4 comprimés de diéthylcarbamazine par jour.

c) Enfin, toujours pour diminuer l'intensité des manifestations allergiques au cours de la cure, le traitement à la diéthylcarbamazine est généralement associé à des anti-histaminiques et surtout à des corticoïdes qui sont susceptibles de modifier l'importance des phénomènes immunologiques post-thérapeutiques.

Telles sont les hypothèses que l'on peut avancer pour expliquer qu'après traitement, l'élévation des titres d'anticorps fluorescents est moins constante et moins importante dans les filarioses qu'elle ne l'est dans les autres helminthiases.

Sur le plan pratique, ceci est très fâcheux. En effet, chez les malades pour lesquels existent de fortes présomptions cliniques et épidémiologiques de verminoses, dont les examens parasitologiques sont négatifs et la sérologie faiblement positive, c'est souvent l'évolution des titres d'anticorps après traitement qui établit définitivement le diagnostic par l'apparition d'un pic sérologique. Nous utilisons régulièrement ce test post-thérapeutique dans les bilharzioses. Pour les filarioses au contraire, il ne semble pas que l'on puisse se fier à ce moyen de confirmation diagnostique a posteriori.

Enfin, ce n'est qu'après un délai extrêmement variable et qui peut dépasser 8 mois que les titres d'anticorps fluorescents se négativent totalement. Il est donc impossible, dans l'état actuel de notre expérience, d'apprécier exactement la valeur de l'immunofluorescence indirecte comme contrôle de guérison.

3. Conclusion

Réalisée sur des coupes à la congélation de Dipetalonema viteae adultes, la réaction d'immunofluorescence indirecte paraît présenter une valeur diagnostique élevée pour les filarioses humaines où elle est positive dans près de 90 % des cas. Cependant, l'emploi d'un antigène de groupe ne permet qu'un diagnostic global de filariose sans qu'il soit possible de déterminer si le malade héberge ou non des filaires pathogènes. Dans de nombreux cas, cette précision supplémentaire peut être apportée par l'emploi d'antigènes spécifiques qui fournissent des titres d'anticorps fluorescents plus élevés que ceux qui sont observés avec les autres antigènes filariens. C'est du moins ce qui paraît résulter d'une expérience préliminaire réalisée avec des antigènes D. viteae, W. bancrofti, L. loa et O. volvulus. L'avantage principal de la technique est précisément de permettre facilement l'emploi de tels antigènes. En effet, la réaction est réalisée sur des coupes à la congélation de 5 μ d'épaisseur, si bien que quelques parasites adultes seulement fournissent assez d'antigènes figurés pour plusieurs milliers de réactions.

L'application de l'immunofluorescence indirecte à des enquêtes épidémiologiques a été envisagée. Les résultats obtenus à partir de 250 sérums prélevés en Afrique de l'ouest et dans des villages d'hyper-, de méso- et d'hypo-endémicité onchocerquienne indiquent que cette technique rend fidèlement compte des conditions d'infestation filarienne. N'exigeant que peu de matériel parasitaire pour la préparation des antigènes figurés et pouvant être effectuée à partir de micro-prélèvements sanguins recueillis après piqûre au doigt, la réaction d'immunofluorescence indirecte se prête parfaitement à une étude sur une vaste échelle qui est actuellement en cours.

Enfin, le traitement par la diéthylcarbamazine semble provoquer chez les filariens une augmentation transitoire et quelquefois importante des titres d'anticorps fluorescents. Ce phénomène est tout à fait comparable à ce qui a été observé à propos d'autres helminthiases. Cependant, en ce qui concerne les filarioses cette augmentation est très inconstante et il est impossible de baser sur l'existence d'un pic sérologique le contrôle d'efficacité d'un médicament ou une confirmation diagnostique a posteriori.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient très vivement l'Organisation mondiale de la Santé et tous les médecins étrangers ou français qui ont bien voulu les aider en leur adressant une très grande partie des sérums étudiés au cours de ce travail.

RESUME

La réaction d'immunofluorescence indirecte sur coupes à la congélation de filaires adultes présente d'importants avantages pratiques. Constitué par des coupes de 5 μ d'épaisseur seulement, l'antigène figuré n'exige que très peu de matériel parasitaire. Une seule filaire adulte suffit ainsi à plusieurs milliers de réactions et le test peut être réalisé avec des antigènes spécifiques constitués par des filaires pathogènes pour l'homme.

Mis au point en 1968, ce test a été régulièrement utilisé depuis lors et les auteurs rapportent les résultats concernant 2611 sérums humains. Au départ, on a utilisé des antigènes de groupe préparés à partir de Dirofilaria immitis. Les caractéristiques de cet antigène ont été comparées à celles de Dipetalonema vitae qui a ensuite servi d'antigène de groupe pour tout le restant du travail.

La spécificité de la réaction a été vérifiée en faisant réagir face à cet antigène 934 sérums de sujets sains ou de malades atteints de diverses affections parasitaires ou non. Inversement, 67 sérums de filariens ont été testés face à d'autres antigènes parasitaires. Ces contrôles ont montré que, dans des conditions techniques très précises, la limite de spécificité du test correspondait à la dilution de 1/20.

La valeur diagnostique de la réaction a été appréciée à partir de 647 sérums de filariens parasitologiquement confirmés et de 342 sérums prélevés chez des malades ayant très probablement une wuchereriose, une loase ou une onchocercose. Pour les diverses filarioses, le test a été trouvé positif dans 84 à 95 % des cas. Cependant, les résultats obtenus face à l'antigène de groupe ne permettent pas d'apprécier si le malade héberge ou non une filaire réellement pathogène. Pour tenter de préciser ce point, 97 sérums de wuchereriose, de loase ou d'onchocercose ont été parallèlement étudiés face à l'antigène spécifique correspondant et face à l'antigène D. viteae. Dans de nombreux cas, l'antigène spécifique révèle des titres d'anticorps fluorescents significativement plus élevés que ceux qui sont observés avec les autres antigènes. Il peut en résulter une amélioration importante des conditions de diagnostic sérologique et surtout une meilleure justification à une décision thérapeutique.

Deux cent cinquante-huit sérums prélevés en Afrique de l'ouest dans des régions à niveaux d'endémicité onchocerquienne différents ont été étudiés par immunofluorescence indirecte. Les résultats sérologiques semblent parfaitement rendre compte des conditions épidémiologiques et le test pourrait apporter d'intéressantes précisions en matière épidémiologique. Il se prête d'autant mieux à cette utilisation qu'il est facilement réalisé sur une vaste échelle et peut être pratiqué à partir de micro-prélèvements sanguins dont la récolte sur le terrain entraîne des difficultés bien moins grandes que les ponctions veineuses.

Enfin, 27 malades atteints de loase ont été suivis sérologiquement avant et après traitement par la diéthylcarbamazine, 4 de ces patients ayant subi 2 cures. Le traitement est dans l'ensemble suivi d'une élévation transitoire des anticorps fluorescents mais ce phénomène est bien plus inconstant que dans les autres helminthiases tissulaires. Ceci tient sans doute aux conditions dans lesquelles est administrée la diéthylcarbamazine, à doses très progressivement croissantes, et aussi à l'administration simultanée d'anti-histaminiques ou de corticoïdes destinés à diminuer les réactions allergiques qui accompagnent souvent le traitement des filarioses.

TABEAU I. SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE
 COMPARAISON DES ANTIGENES DIROFILARIA IMMITIS ET DIPETALONEMA VITEAE
 PAR L'ETUDE DE 152 SERUMS DE FILARIENS

Antigène Dipetalomea viteae

	<1/20	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	TOTAL
< 1/20	14	2	0	0	0	0	0	0	16
1/20	3	28	2	0	0	0	0	0	33
1/40	0	4	19	3	0	0	0	0	26
1/80	0	0	1	34	0	0	0	0	35
1/160	0	0	0	1	14	4	0	0	19
1/320	0	0	0	0	1	16	0	0	17
1/640	0	0	0	0	2	1	2	0	5
1/1280	0	0	0	0	0	0	0	1	1
TOTAL	17	34	22	38	17	21	2	1	152

Antigène
Dirofilaria
immitis

TABLEAU II. SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE
 CONTROLES DE SPECIFICITE (Antigène *D. viteae*)

ORIGINES DES SERUMS TEMOINS	NOMBRE DE SERUMS	TITRES D'ANTICORPS FLUORESCENTS			
		< 1/20	1/20	1/40	1/80
<u>I Sérums prélevés en Europe</u>					
Sujets sains	80	80	0	0	0
Ascaridiose	54	53	1	0	0
Trichocéphalose	18	18	0	0	0
Ankylostomose	14	14	0	0	0
Anguillulose intestinale	39	37	2	0	0
Trichostrongylose	2	2	0	0	0
Fasciolose	42	42	0	0	0
Bilharziose urinaire	39	39	0	0	0
Bilharziose intestinale	43	41	1	1	0
Cysticercose	2	2	0	0	0
Kyste hydatique	29	29	0	0	0
Echinococcose alvéolaire	7	7	0	0	0
Taeniasis à <i>T. Saginata</i>	18	18	0	0	0
Paludisme	74	73	1	0	0
Amibiase hépatique	38	37	1	0	0
Toxoplasmose	100	100	0	0	0
Kala-Azar	4	3	1	0	0
Lambliose	7	7	0	0	0
Candidosose	17	17	0	0	0
Aspergillose	19	19	0	0	0
Syphilis	29	29	0	0	0
Pian	5	5	0	0	0
<u>TOTAL</u>	680	672 98,2 %	7 (1%) 1,5 %	1 0,02 %	0
<u>II Sérums prélevés Outre-Mer</u>					
Tunisie	106	97	3	5	1
République Centre-Africaine	31	27	2	1	1
Soudan	85	78	0	6	1
Colombie	32	26	0	5	1
<u>TOTAL</u>	254	228 (89,8 %)	5 (2 %)	17 (6,7 %)	4 (1,5 %)
<u>III TOTAL GENERAL</u>	934	900 (96,4%)	6 (0,6%)	24 (2,6%)	4 (0,4%)

TABLEAU III. SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE. CONTROLES DE SPECIFICITE. SERUMS DE FILARIENS ETUDIES FACET A DIFFERENTS ANTIGENES PARASITAIRES

NATURE DES SERUMS	NOMBRE	ANTIGENES ET TITRES D'ANTICORPS FLUORESCENTS														
		Ascaris lumbricoïdes		strongyloïdes stercoralis		Schistosoma mansoni		Fasciola hepatica		Echinococcus granulosus		Toxoplasma gondii				
		6/20	5/20	1/40	<1/20	1/20	1/40	<1/20	1/20	1/40	<1/20	1/20	1/40	<1/20	1/20	1/40
Dracunculose	3	2	1	0	3	0	0	3	0	0	3	0	0	0	3	0
Wuchereriose	14	12	2	0	13	1	0	14	0	0	14	0	0	0	14	0
Loase	22	20	1	1	21	1	0	22	0	0	22	0	0	0	22	0
Ochocercose	19	17	2	0	18	1	0	19	0	0	19	0	0	0	19	0
Filariose à D. perstans	9	8	1	0	8	1	0	9	0	0	9	0	0	0	9	0
TOTAL	67	59 (88,1%)	7 (10,4%)	1 (1,5%)	63 (94%)	4 (6%)	0	66 (98,5%)	1 (1,5%)	0	67 (100%)	0	0	67 (100%)	0	0

TABLEAU IV. SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE
 ETUDE DE 647 SERUMS DE FILARIENS PARASITOLOGIQUEMENT CONFIRMES (ANTIGENE D. VITEAE)

Nature des sérums	Nombre de sérums	Titres d'anticorps fluorescents								% de positifs	GMRT
		1/20	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280		
<u>DRACUNCULOSE</u>											
Z.E. Aut.	6	0	1*	0	0	2	2	1	0	-	-
<u>WUCHERERIOSE</u>											
E. Eur.	6	1	0	3	0	1	1	0	0	-	-
Aut.	3	0	1	0	1	0	0	1	0	-	-
Z.E. Aut.	94	14	16	19	20	5	17	7	2	85	41,3
Total	103	15	17	22	21	6	18	2	2	85,4	42,2
<u>LOASE</u>											
E. Eur.	34	5	8	7	5	7	1	1	0	85,3	33,5
Aut.	37	5	6	7	4	9	3	1	2	86,5	50,4
Z.E. Aut.	109	12	7	12	28	16	22	5	7	89	80,6
Total	180	22	21	26	37	32	26	7	9	87,8	61,8
<u>ONCHOCERCOSE</u>											
E. Eur.	2	0	1	1	0	0	0	0	0	-	-
Aut.	6	0	1	3	0	1	1	0	0	-	-
Z.E. Aut.	189	18	26	41	55	29	9	8	3	90,5	50,6
Total	197	18	28	45	55	30	10	8	3	94,7	52,1
<u>LOASE + ONCHOCERCOSE</u>											
E. Aut.	3	0	1	0	1	1	0	0	0	-	-
Z.E. Aut.	19	1	6	6	3	1	2	0	0	94,8	39,4
Total	22	1	7	6	4	2	2	0	0	95,4	42,1
<u>LOASE + FILARIOSE à D. perstans</u>											
E. Eur.	5	0	2	1	0	1	1	0	0	-	-
Aut.	7	1	0	3	1	0	1	1	0	-	-
Z.E. Aut.	14	1	2	4	1	3	0	2	1	92,8	74,1
Total	26	2	4	8	2	4	2	3	1	92,3	65,2
<u>FILARIOSES à D. perstans</u>											
E. Eur.	3	1	0	1	1	0	0	0	0	-	-
Aut.	7	2	2	1	0	2	0	0	0	-	-
Z.E. Aut.	103	15	32	30	17	5	3	1	0	85,4	24,6
Total	113	18	34	32	18	7	3	1	0	84	23,7
<u>TOTAL</u>											
E. Eur.	50	7	11	13	6	9	3	1	0	84	34,2
Aut.	63	8	11	14	7	13	5	3	2	87,3	47,9
Z.E. Aut.	534	61	90	112	124	61	55	18	13	88,6	47,5
TOTAL GENERAL	647	76	112	139	137	83	63	22	15	88,2	40,1

* Filaire calcifiée. E - Prélèvements faits en Europe. Eur - Européens.
 Aut - Sujets originaires de zones d'endémies filariennes.
 Z.E. - Prélèvements réalisés en zones d'endémies.

TABLEAU V. SERO-DIAGNOSTIC DES WUCHERIOSES
 RESULTATS D'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE (ANTIGENE D. VITEAE)
 PAR RAPPORT AUX DONNEES DE LA PARASITEMIE P.
 (VOIR TABLEAU 4 POUR LES AUTRES ABBREVIATIONS)

Lieu de prélèvements et catégories de malades examinés	Nombre de sérum	Titres d'anticorps fluorescents								% de positifs	GMRT	
		1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280				
E. Aut.	3	0	0	1	0	0	0	0	1	0	-	-
P -	9	0	2	2	0	0	0	0	0	0	-	-
P +	94	14	19	20	5	17	1	2	1	2	85 %	41,3
Z.E. Aut.	77	7	14	15	7	14	1	2	1	2	90,9 %	55
Total P +	97	14	19	21	5	17	2	2	2	2	85,6 %	42,5
Total P -	86	7	17	19	7	14	1	2	1	2	91,9 %	52

TABLEAU VI. SERO-DIAGNOSTIC DE LA LOASE
 RESULTATS DE L'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE (ANTIGENE D. VITEAE)
 PAR RAPPORT AUX DONNEES DE LA PARASITEMIE P.
 (VOIR TABLEAU 4 POUR LES AUTRES ABBREVIATIONS)

Lieux de prélèvements et catégories de malades examinés	Nombre de sérums	Titres d'anticorps fluorescents								% des positifs	GMRT
		1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280			
E	P +	5	7	5	7	1	1	0	85,3	33,5	
	Eur										
	P -	7	11	17	8	3	1	1	87,7	42,4	
E	P +	5	7	4	9	3	1	2	86,5	50,4	
	Aut										
	P -	4	7	3	10	4	2	1	88,8	60,7	
Z.E.	P +	12	12	28	16	22	5	7	89	80,6	
	Aut										
	P -	6	14	19	14	21	6	5	93,6	64	
TOTAL	P +	22	26	37	32	26	7	9	87,8	61,8	
TOTAL	P -	17	32	39	32	28	9	7	90,9	68,3	

TABLEAU VII. SERO-DIAGNOSTIC DE L'ONCHOCERCOSE
 RESULTATS DE L'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE (ANTIGENE D. VITEAE)
 PAR RAPPORT AUX DONNEES DES EXAMENS PARASITOLOGIQUES P. (RECHERCHE DE MICROFILAIRES DANS LE DERMES)
 (VOIR TABLEAU 4 POUR LES AUTRES ABBREVIATIONS)

Lieux de prélèvements et catégories de malades examinés	Nombre de sérum	Titres d'anticorps fluorescents							% de positifs	GMRT
		1/20	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640		
E Aut	6	0	1	3	0	1	1	0	0	-
	8	1	3	2	0	0	1	1	0	-
Z.E. Aut	189	18	26	41	55	29	9	8	3	50,6
	61	4	14	7	11	17	2	5	1	60,2
TOTAL P +	195	18	27	44	55	30	10	8	3	42
TOTAL P -	69	5	17	9	11	17	3	6	1	56,7

TABLEAU VIII. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES FILARIOSES A W. BANCRIFTI, LOA LOA OU O. VOLVULUS
 RESULTATS COMPARES DE L'IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE SUR ANTIGENE D. VITEAE
 ET DE LA RECHERCHE DES MICROFILAIRES
 (VOIR TABLEAU 4 POUR LES ABBREVIATIONS)

Type de Filariose	Lieu de Prélèvement	Sujets Examinés	Nombre de cas	Recherche de microfilaraires positive	Réactions d'Immuno-Fluorescence indirecte positives
WUCHERERIOSE	E	Aut	12	3 (25%)	12 (100%)
	Z.E.	Aut	171	94 (54,9%)	151 (88,3%)
	Total		183	97 (53%)	163 (83%)
LOASE	E	Eur.	91	34 (37,4%)	79 (89,1%)
		Aut.	73	37 (50,7%)	64 (87,7%)
	Z.E.	Aut.	203	109(53,7%)	185 (91,1%)
	Total		367	180 (49%)	328 (89,4%)
ONCHOCERCOSE	E	Aut.	14	6(42,8%)	13 (92,8%)
	Z.E.	Aut.	250	189 (75,6%)	228 (91,2%)
	Total		264	195 (73,9%)	241 (91,3%)
TOTAL	E		190	80 (42,1%)	168 (88,4%)
	Z.E.		624	392 (62,9%)	564 (90,4%)
TOTAL GENERAL			814	472 (58%)	732 (89,9%)

TABLEAU IX SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE
 ETUDE DE 97 SERUMS DE FILARIOSES CONFIRMES
 RESULTATS OBTENUS FACE A L'ANTIGENE SPECIFIQUE CORRESPONDANT ET FACE A L'ANTIGENE D. VITAE

Type de Filariose	Nombre de sérums	Antigène spécifique Titres d'anticorps fluorescents					Total résultats positifs	GMRT	Antigènes D. vitae Titres d'anticorps fluorescents					Total résultats positifs	GMRT	
		1/20	1/40	1/80	1/160	1/320			1/20	1/40	1/80	1/160	1/320			
		1/20	1/40	1/80	1/160	1/320			1/20	1/40	1/80	1/160	1/320			
BUCHERIOSIS	31	2	7	9	4	1	29 (93,5%)	47,1	4	9	5	3	1	0	27 (83,1%)	27,7
LOASES	14	0	1	1	2	3	14 (100%)	125	0	3	3	2	1	0	14 (100%)	56,5
ONCHOCERCOSES	52	0	0	9	16	14	52 (100%)	222	1	2	8	14	11	7	51 (98,1%)	145
TOTAL	97	2	8	19	22	18	95 (97,9%)	126	5	14	16	19	13	7	92 (94,8%)	74,3

TABLEAU X. SERO-DIAGNOSTIC DES FILARIOSES PAR IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE
 ETUDE DE 29 SERUMS DE FILARIOSES CONFIRMES FACE AUX ANTIGENES
D. viteae, W. bancrofti, L. loa et O. volvulus

Antigènes	<u>D. viteae</u>	<u>W. bancrofti</u>	<u>L. loa</u>	<u>O. volvulus</u>
sérums	Inverses des titres d'anticorps fluorescents			
WUCHERERIOSE	0	20	0	0
	20	20	20	20
	40	80	40	40
	40	80	40	40
	80	320	40	80
	80	160	40	40
	160	160	NP	80
	160	640	160	160
LOASE	160	320	NP	80
	20	20	80	40
	40	0	40	20
	40	20	80	20
	40	40	640	20
	40	40	40	20
	80	80	320	160
ONCHOCERCOSE	80	40	80	80
	0	20	0	20
	40	20	0	80
	40	0	20	40
	40	40	20	320
	40	20	40	40
	80	40	NP	160
	80	40	NP	160
	160	80	160	640
	160	80	80	320
	160	80	NP	320
320	160	160	640	
FILARIOSES A <u>D. PERSTANS</u>	40	40	80	40
	80	80	80	80

TABEAU XI. IMMUNO-FLUORESCENCE INDIRECTE DES FILARIOSES (ANTIGENE D. VITEAE)
 SERUMS PRELEVES DANS DES VILLAGES AFRICAINS AYANT UN DEGRE DIFFERENT D'ENDEMICITE ONCHOCERQUIENNE

Niveau d'endémicité onchocerquienne des villages étudiés	Nombre de sérum	Titres d'anticorps fluorescents						Total des positifs	GMRT
		1/20	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320		
Hyper-endémicité	97	10	12	22	30	20	3	87(89,6%)	52,7
Méso-endémicité	134	28	29	31	26	17	3	105(78%)	25,9
Hypo-endémicité	27	9	10	4	3	1	0	18(66%)	10,3

TABLÉAU XII. ÉVOLUTION DES TITRES D'ANTICORPS FLUORESCENTS
 ET DE L'ÉOSINOPHILIE SANGUINE (CHIFFRES ENTRE PARENTHESES)
 CHEZ DES FILARIENS (Loa loa) TRAITÉS PAR LA DIETHYLCARBAMAZINE

Numéros des cas	JOURS												
	0	10	20	30	40	70	100	120	130	160	190	240	
3	40 (24)	-	20 (10)	20 (15)	20 (12)	-	0 (6)	-	-	-	-	-	
5	40 (26)	-	-	20 (17)	20 (15)	-	-	-	40 (15)	-	-	-	
10	40 (30)	-	-	160 (41)	-	40 (21)	0 (12)	-	-	20 (7)	-	-	
12	40 (18)	80 (21)	160 (47)	-	-	0 (10)	0 (9)	0 (6)	-	-	0 (4)	0 (4)	
14	20 (16)	40 (19)	-	20 (15)	20 (12)	-	-	-	-	-	-	-	
15	40 (30)	-	40 (27)	-	-	-	-	20 (9)	-	0 (4)	-	-	
23	80 (16)	-	-	80 (42)	-	40 (25)	-	-	-	20 (4)	-	-	
24	20 (21)	80 (20)	-	-	-	-	20 (7)	0 (6)	-	0 (3)	20 (7)	-	
25	40 (15)	-	-	40 (20)	-	-	-	-	0 (2)	-	-	-	
27	20 (15)	20 (40)	160 (36)	-	-	40 (20)	-	-	-	-	-	-	
28	40 (21)	-	-	80 (29)	-	-	-	40 (26)	-	-	-	-	
30	80 (54)	-	160 (41)	320 (32)	-	80 (15)	-	-	40 (8)	-	-	20 (2)	
31	40 (18)	-	-	160 (21)	-	-	-	-	-	20 (2)	-	-	
44	40 (18)	80 (50)	-	-	40 (17)	-	-	40 (12)	-	-	-	-	
52	80 (16)	-	40 (18)	80 (21)	80 (17)	-	20 (11)	-	-	-	20 (9)	20 (6)	
54	0 (17)	80 (29)	-	-	-	-	-	-	0 (6)	-	-	-	
56	0 (18)	-	20 (16)	-	-	-	-	-	20 (9)	-	0 (2)	-	
57	20 (17)	-	80 (20)	-	80 (14)	-	20 (8)	-	0 (9)	-	-	-	
63	40 (18)	-	-	160 (23)	-	-	20 (11)	-	-	-	0 (9)	0 (3)	
64	80 (21)	-	80 (16)	-	40 (10)	-	-	0 (6)	-	-	-	-	
65	0 (16)	-	20 (21)	-	-	0 (8)	-	-	-	-	-	-	
67	80 (17)	-	80 (22)	-	-	-	-	-	-	20 (4)	-	-	
68	40 (32)	-	-	80 (34)	-	20 (10)	-	0 (8)	-	-	-	0 (3)	
TOTAL	23	6	11	11	7	7	6	7	6	6	5	5	
GMRT	25,5	56,4	58,4	71,2	61,2	13,9	7,4	4,4	5,6	7,4	3,3	3,3	

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AMBROISE-THOMAS P. L'immuno-fluorescence dans le diagnostic direct et indirect des parasitoses. Application à la Toxoplasmose.
- Thèse Doct. Médecine. LYON. 1963, 160 p., 115 ref.
2. AMBROISE-THOMAS P., GAREN J.P. et RIGAUD A. Amélioration de la technique d'immuno-fluorescence par l'emploi de contre-colorants.
- Presse Médicale, 1966, 43 : 2215-2216.
3. AMBROISE-THOMAS P. et KIEN TRUONG T. Nouvelle technique de micro-prélèvements sanguins pour la réaction d'immuno-fluorescence.
- Bull. Ass. Diplom. Microbiol. Nancy, 1968, n° 112 : 29-33.
4. AMBROISE-THOMAS P. Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence.
- Thèse Doct. ès-sc., LYON 1969, 644 p., 967 ref.
5. BEAVER P.C. Filariasis without microfilaremia.
Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1970, 19 : 181-189.
6. BIGUET J., D'HAUSSY R., CAPRON A., TRAN VAN KY P. et AUBRY M. Les antigènes de Onchocerca volvulus. I - Etude immuno-électrophorétique préliminaire.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1962, 55 : 845-855.
7. BIGUET J., D'HAUSSY R., AUBRY M. et ROSE F. Etude des anticorps précipitants chez les sujets atteints d'Onchocercose.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1964, 57 : 1098-1116.
8. CAPRON A., GENTILINI M. et VERNES A. Le diagnostic immunologique des Filarioses. Possibilités nouvelles offertes par l'immuno-électrophorèse.
- Path. Biol., 1968, 16 : 1039-1045.
9. CAPRON A., GENTILINI M. et BIGUET J. Immunologic diagnosis of filariasis by immuno-electrophoresis.
- H.D. Srivastava Commen., 1970 : 527-536.
10. CHOWDHURY A.B. et SCHILLER E.L. Preliminary observations on the application of fluorescent antibody technique in the laboratory diagnosis of filariasis.
- Bull. Calcutta school Trop. med., 1962, 10 : 97-99.
11. COUDERT J., AMBROISE-THOMAS P., KIEN TRUONG T. et TERRENO S. Diagnostic sérologique des Filarioses par immuno-fluorescence sur coupes de Dirofilaria immitis et de Dipetalonema viteae.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1968, 61 : 435-441.
12. D'HAUSSY R., CAPRON A., ROLLAND A. et BIGUET J. Rapport de l'immunologie à l'épidémiologie de l'Onchocercose. Correlations avec les données parasitologiques et ophtalmologiques.
- Rev. Immunologie, à paraître.

13. DIESFELD H.J. et BRAUN-MUNZINGER R. Quantitative und qualitative Aspekte bei der Verwendung von Löschpapier als Träger von Blutproben für die immun-fluoreszenzdiagnostik der Filariose.
- Z. Tropen. med. Parasit., 1972, 23 : 10-16.
14. DODIN A., BRYGOO E.R., RICHAUD J. et MOREAU J.P. Etude électrophorétique et immunologique du sérum de filariens à Wuchereria bancrofti avant et après traitement à la Diéthylcarbamazine. I. Etude électrophorétique et biologique.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1965, 58 : 1072-1079.
15. DODIN A., MOREAU J.P. et LAMBERT C. Etude électrophorétique et immunologique de filariens à Wuchereria bancrofti avant et après traitement par la Diéthylcarbamazine. II. Etude immunologique.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1965, 58 : 1079-1085.
16. DUXBURY R.E. et SADUN E.H. Soluble antigen fluorescent antibody test (SAFA) for human filariasis.
- Exp. Parasit., 1967, 20 : 77-82.
17. FUJITA K., TANAKA H., SASA M., SHICHINOHE K., ASAI Y. et KUROKAWA K. Cross-reactions among filarial species in hemagglutination test.
- Jap. J. Exp. Med., 1970, 40 : 67-77.
18. 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'immuno-fluorescence indirecte.
- Bull. Soc. Path. Exot., 1972, 65 : 103-111
19. GENTILINI M., PINON J.M. et NIEL G. Electroimmunodiffusion sur membrane d'acétate de cellulose. Applications diagnostiques en Parasitologie.
- Bull. Soc. Path. Exot. 1972, 65 : 60-66.
20. GIDEL R., BRENGUES J. et RODHAIN F. Essai de deux tests immunologiques (intradermoréaction et réaction de fixation du complément) pour le dépistage des filarioses dans des populations de Haute-Volta où coexistent Wuchereria bancrofti, Onchocerca volvulus et Dipetalonema perstans.
- Bull. O.M.S., 1969, 40 : 831-842.
21. KAGAN I.G. A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis.
J. of Parasitology, 1963, 49 : 773-798.
22. KAGAN I.G., NORMAN L. et ALLAIN D.S. An evaluation of the Bentonite flocculation and indirect hemagglutination tests for the diagnosis of filariasis.
- Amer. J. Trop. Med. Hyg., 1963, 12 : 548-555.
23. KIEN TRUONG T. et AMBROISE-THOMAS P. Technique d'inclusion et de coupe à la congélation du matériel parasitaire pour les réactions d'immuno-fluorescence.
- Bull. Ass. Diplom. Microbiol. Nancy, 1968, n° 109 : 15-20.
24. LUCASSE G. Fluorescent antibody test for onchocerciasis.
Z. Tropenmed. Parasit., 1962, 13 : 404-408.

25. LUCASSE C. et HOEPPLI R. Immuno-fluorescence in Onchocerciasis
- Z. Tropenmed. Parasit., 1963, 14 : 262-269.
26. MANTOVANI A. et SULZER A. Indirect fluorescent antibody
technique for diagnosis of canine filariasis.
- Amer. J. Veter. Res., 1967, 28 : 351-354.
27. MULLER R. Diagnosis by indirect fluorescent antibody technique.
- Exp. Parasit., 1970, 27 : 357-361.
28. OLIVER-GONZALEZ J. Intradermal reactions to schistosoma and
filaria antigens in patients before and after treatment of the
parasitic infections.
- Amer. J. Trop. med. Hyg., 1953, 2 : 79-84.
29. Organisation Mondiale de la Santé: immunologie et maladies
parasitaires.
Série rapports techniques O.M.S. 1967, n° 359.
30. ROSE G., BIGUET J., ROSE F., et D'HAUSSY R. Application d'une
réaction d'hémagglutination au diagnostic de l'Onchocercose.
- Rev. Hyg. Med. Soc., 1966, 14 : 383-392.
31. SATO K. et SAWADA T. Studies on skin test antigen FST for
immunodiagnosis of filariasis. II The fractionation of the
main proteins contained in fractions. FST 1, 2, 3 and 5 by
discelectrophoresis.
- Jap. J. Exp. Med., 1969, 39 : 435-440.
32. SAWADA T., KONO M., SATO S., YAMAMOTO T. et TAKEI K.
Immunological studies on filariasis. I. Intradermal and precipitin
tests with Dirofilaria immitis in canine and human
filariasis.
- Gunna J. Med. Sci., 1962, 11 : 7-16.
33. SAWADA T., KONO M., SATO S., YAMAMOTO T. et TAKEI T.
Immunological studies on filariasis. II. Intradermal tests with
purified antigens in canine and human filariasis.
- Gunna J. Med. Sci. 1962, 11 : 17-24.
34. SAWADA T., TAKEI K., KATAMINE D. et YOSHIMURA T. Immunological
studies on filariasis III. Isolation and purification of
antigen for intradermal skin test.
Jap. J. Exp. Med., 1965, 35 : 125-132.
35. SAWADA T., SATO K et SATO S. The purification of antigens for
hemagglutination and complement fixation tests on filariais
and the substance responsible for skin tests in antigen FST.
- C.R. VIII ème Cong. Inter. Med. Trop. Malar., 1968 : 89.
36. SAWADA T., SATO S., MATSUYAMA S., MIYAGI H. et SHINZATO J.
Intradermal skin tests with antigen FST (FSCDI) on individuals
in endemic area.
- Jap. J. Exp. Med., 1968, 38 : 405-414.
37. SAWADA T., SATOK. et SATO S. Studies on skin test antigen FST
for immunodiagnosis of filariasis. I. Electrophoretic analysis
and fractionation of antigen SFT.
- Jap. J. Exp. Med., 1969, 39 : 427-433.

38. TANAKA H., FUJITA K., SASA M., TAGAWA M., NAITO M. et KUROKAWA K.
Cross-reactions in complement fixation test among filaria species.
- Jap. J. Exp. Med., 1970, 40 : 47-58.
39. TERRENO S. Diagnostic sérologique des filarioses humaines par immuno-fluorescence indirecte sur coupes de filaires adultes. A propos de 1685 examens.
Thèse Doct. Pharmacie Univers. Lyon, 1970, 131 P., 138 ref.

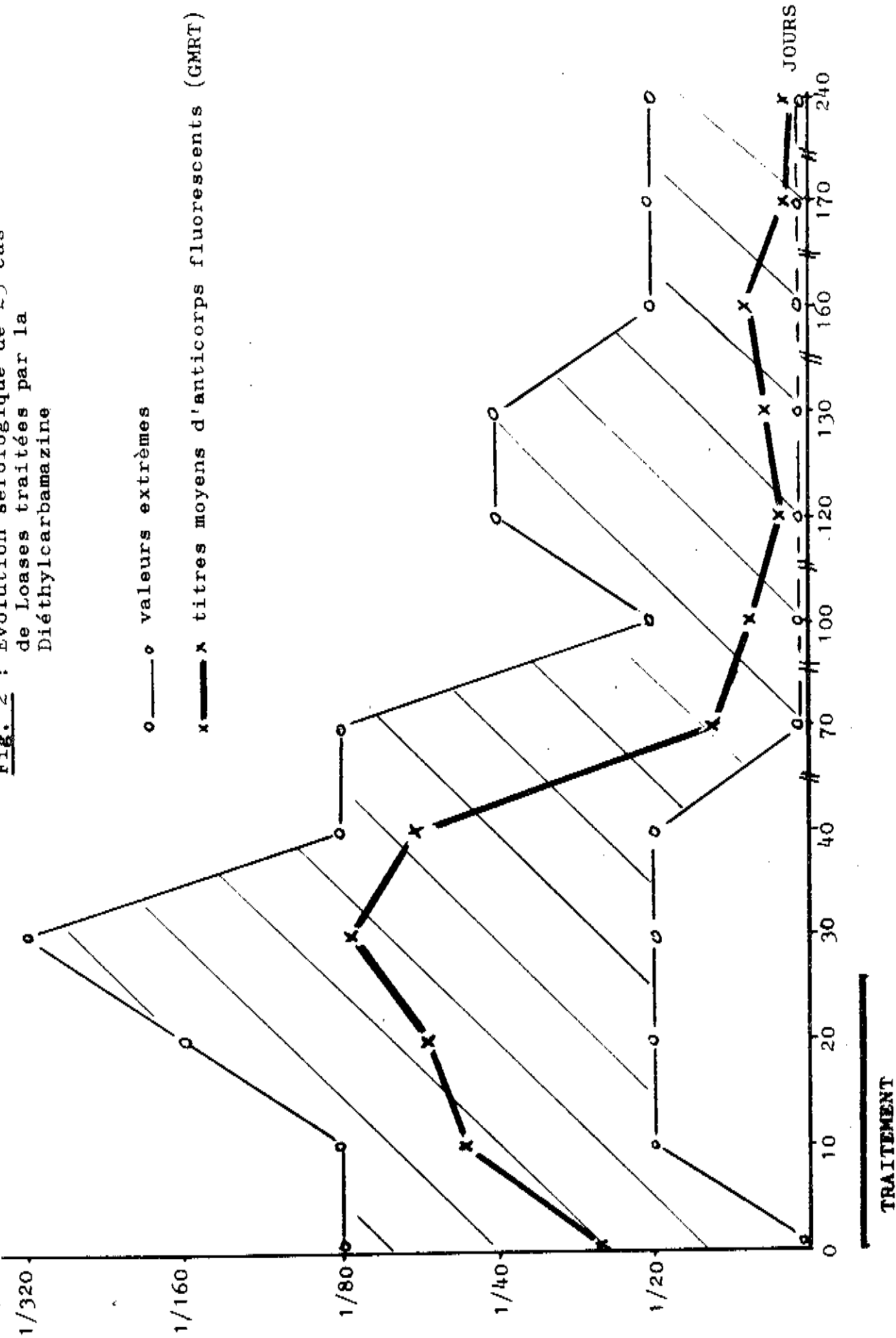


Fig. 1

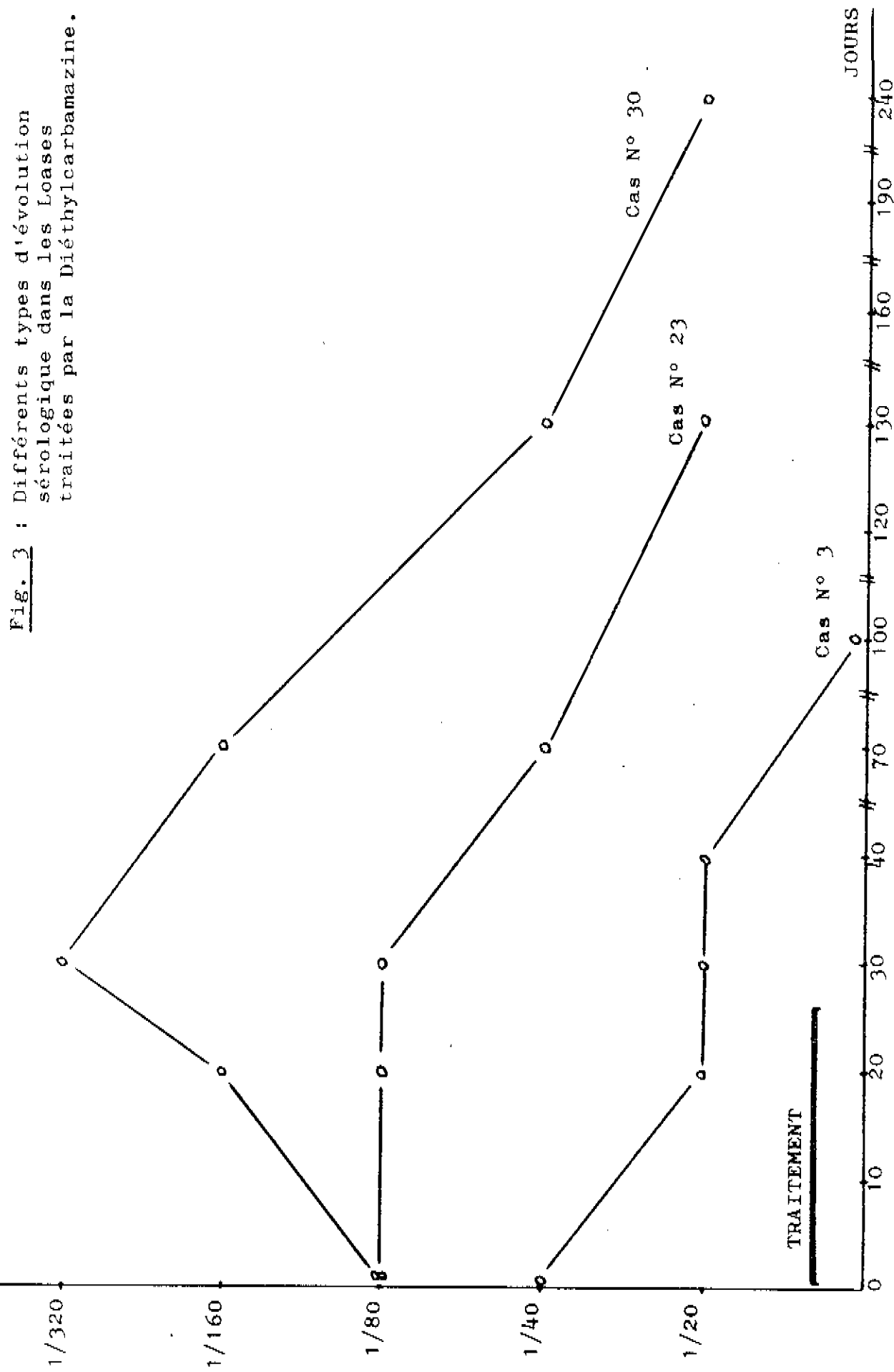
Immuno-Fluorescence des Filarioses. Réaction positive. La fluorescence spécifique jaune verte - mal visible sur un cliché en noir et blanc - est localisée dans l'espace sous-cuticulaire.

Titres d'anticorps
fluorescents

Fig. 2 : Evolution sérologique de 23 cas
de Loases traitées par la
Diéthylcarbamazine

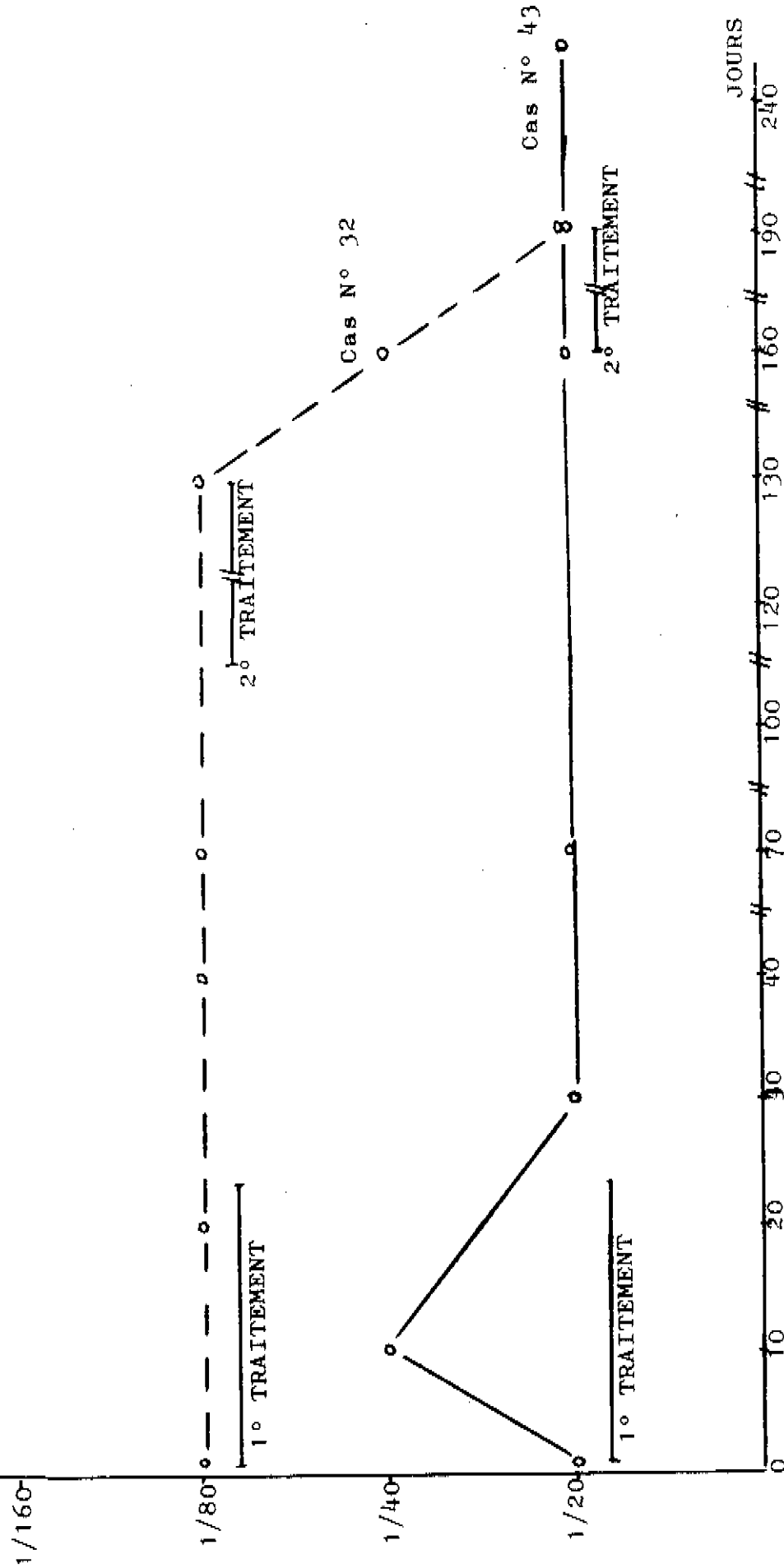


Titres d'anticorps
fluorescents



Titres d'anticorps
fluorescents

Fig 4 : Evolution sérologique de Loases
traitées par deux cures de
Diéthylcarbazine.
(cas n° 32 et 43).



Titres d'anticorps
fluorescents

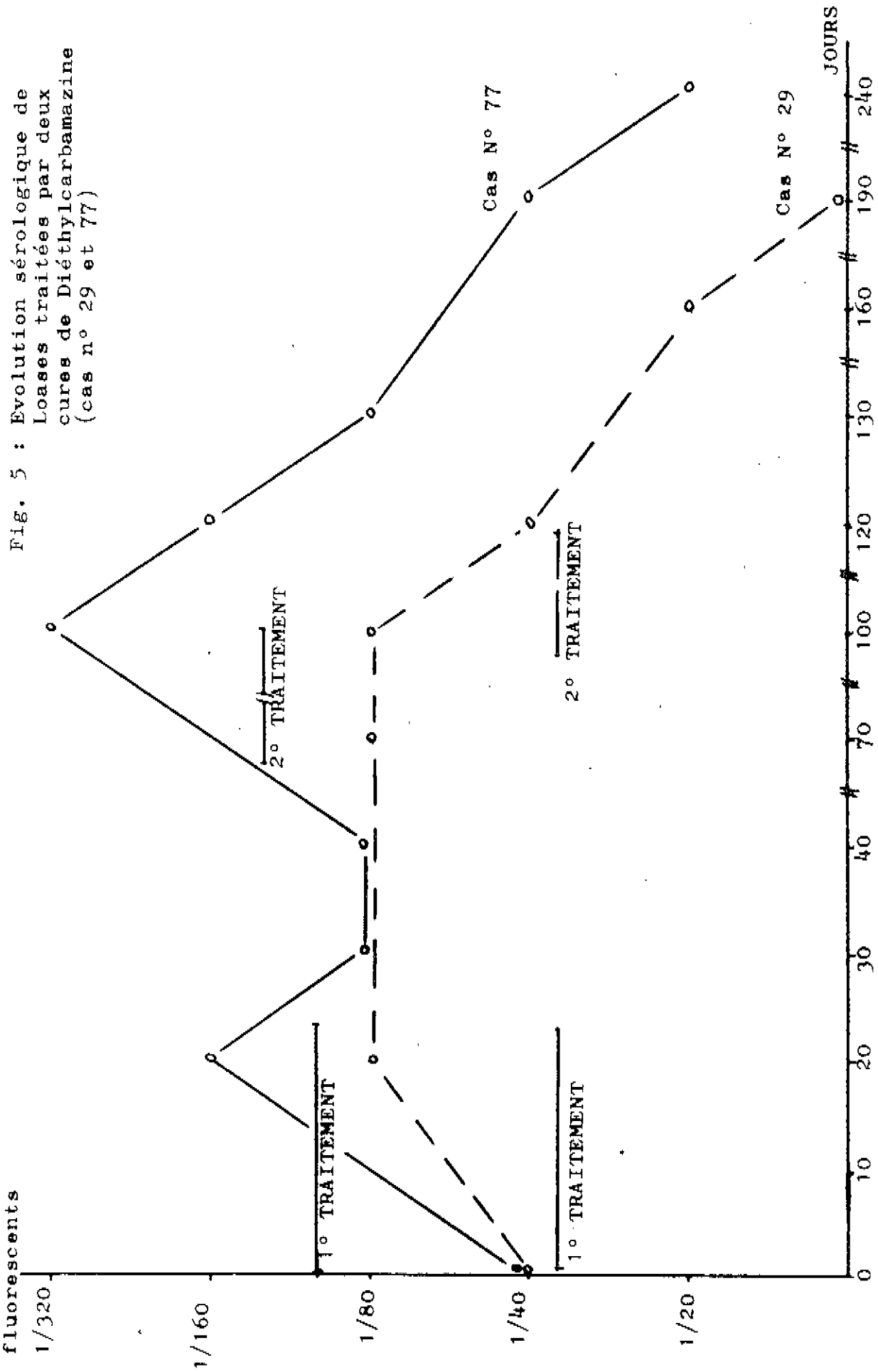


Fig. 5 : Evolution sérologique de
Loases traitées par deux
cures de Diéthylcarbamazine
(cas n° 29 et 77)