

EVALUATION D'UN REACTIF ELISA POUR LA SEROLOGIE DE LA FILARIOSE

Sandrine HOUZE¹, Leila EISELE², Lydia VASLIN¹, Jacques LE BRAS¹.

¹. Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, 75877 Paris cedex 18, France.

². Bordier Affinity Products SA, Chatanerie 2, 1023 Crissier, Suisse.

Introduction

Les filarioses sont des parasitoses dues à des nématodes (*Loa-loa*, *Onchocerca volvulus*, *Dracunculus medinensis*, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*) dont la présence chez l'homme cause divers troubles cliniques. Leur diagnostic repose sur la présentation clinique, un séjour en zone tropicale, l'hyper-éosinophilie, et la mise en évidence des microfilaires qui permet le diagnostic parasitologique avec l'excision d'une filaire adulte mais celui-ci est fréquemment en défaut. C'est pourquoi la sérologie associant l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur coupes à congélation de vers adultes de filaires animales (*Acanthocheilonema (Dipetalonema) viteae*, *Dirofilaria immitis*, *Setaria sp.*) et l'immunoélectrophorèse (IEP) avec recherche d'arcs de précipitation est une aide au diagnostic. Ces techniques sont faiblement positives chez les sujets microfilariémiques, plus fortement positives dans les filarioses occultes ou sans microfilariémie.

Au cours de l'évaluation d'un réactif ELISA *Acanthocheilonema viteae* pour la sérologie de la filariose humaine, produit par Bordier Affinity Products SA, nous avons étudié les performances de ce réactif : la sensibilité, la spécificité et la reproductibilité.

Résultats

Vérification du seuil de positivité :

Sur les sérums de 50 donneurs sains, aucune réaction positive n'a été observée avec un seuil fixé à 10% du sérum témoin positif.

Répétabilité et reproductibilité :

- Dix sérums étudiés 5 fois dans la même série ont permis de montrer que la répétabilité était bonne : aucun sérum n'étant passé de négatif à positif ou inversement.

- La reproductibilité étudiée sur 10 sérums dans différentes séries réalisées sur 2 lots du réactif testé est satisfaisante : les résultats qualitatifs de ces échantillons étant identiques quelque soit le lot ou la série.

Spécificité :

Les résultats des études de réactions croisées sont présentés dans le tableau 1.

Evaluation de la sensibilité :

Sur les 180 sérums négatifs inclus dans cette étude, 4 sérums étaient positifs en Elisa.

Sur les 22 sérums considérés positifs, une réaction positive en Elisa a été observée pour 21 d'entre-eux (le patient dont le sérum est négatif présentait une forte parasitémie à microfilaires de *Loa-loa*).

D'après ces résultats, la sensibilité du réactif est de 95% avec une spécificité de 98%, pour une valeur prédictive positive (VPP) de 84% et une valeur prédictive négative (VPN) de 99%.

Conclusion

- La réactif ELISA pour le diagnostic de la filariose humaine proposé par Bordier Affinity Products SA permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques.
- L'antigène est le même que celui utilisé pour l'IFI mais la méthodologie ELISA permet un résultat objectif non opérateur dépendant. La production industrielle de ce réactif assure une reproductibilité et un contrôle de qualité.
- Les réactions croisées observées ont été déjà décrites et sont liées à la communauté antigénique existante entre parasites. Le fort pourcentage de positivité observé avec les nématodoses incite à proposer ce réactif comme aide au diagnostic dans ces parasitoses. Le contexte clinique et épidémiologique permet d'interpréter les résultats obtenus et de différencier les réactions non spécifiques des vrais résultats positifs.

Bibliographie

1. Les nouvelles techniques en parasitologie. YJ Golvan, P. Ambroise-Thomas. Flammarion Médecine Science. 1984, 273-274.

2. INFO parasitair Infektionen. Diagnostik-Zentrum. Schweizerisches tropeninstitut. Dezember 1998, nummer 2, 1-6.

3. Evaluation of serological assays for diagnosis of onchocercosis. C. Lavehvat, I. Ljungstrom, G. Guzman, C. Thors, T. Eriksson, HO. Akuffo. Scand. J. Infect. Dis. 1997, 29, 65-70.

4. Mise au point d'un test Elisa pour le diagnostic des filarioses humaines. B. Gueglio, C. Bordier M. Marjolet. Bulletin de la Société Française de Parasitologie, 1995, 13, 1, 67-72.

5. A recombinant antigen-based IgG4 Elisa for the specific and sensitive detection of *Brugia malayi* infection. N. Rahmah, BH Lim, Z. Khairul Anuar, RK. Shenoy, V. Kumaraswami, S. Lokman Hakim, P. Chotechuang, K. Kanjanapas, CP. Ramachandran. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 2001, 95, 280-284.

Matériel et méthodes

Sérums étudiés :

- cinquante sérums de sujets sains (femmes enceintes)
- cent quatre-vingt sérums cryoconservés à -20°C, considérés négatifs, issus de patients de Médecine Tropicale, pour lesquels une sérologie filariose avait été demandée (contexte clinique et épidémiologique évocateur) et pour lesquels un autre diagnostic a été retenu.
- vingt-deux sérums cryoconservés à -20°C, issus de patients de Médecine Tropicale, considérés positifs pour différentes filarioses humaines sur la présence de microfilaires et/ou sur une sérologie positive en IFI (*Acanthocheilonema viteae*) avec un titre supérieur ou égal au 1/200^{ème} et la présence d'arcs de précipitation caractéristiques en IEP avec un extrait antigénique d'*Ascaris suum*.
- soixante-quinze sérums cryoconservés à -20°C, issus de patients présentant des pathologies diverses inclus pour la recherche de réactions croisées avec le réactif évalué.

Réactif évalué :

Acanthocheilonema viteae, trousse ELISA pour le diagnostic de la filariose humaine, dont les puits sont recouverts d'antigènes somatiques purifiés de femelles *Acanthocheilonema viteae*.

Un témoin négatif, un témoin seuil correspondant à 10% du témoin positif et un témoin positif sont inclus dans chaque série. Un conjugué composé de protéine A couplé à la phosphatase alcaline permet la révélation de la fixation des anticorps. Les densités optiques sont lues à 405nm. La valeur de D.O. du blanc est retirée de toutes les valeurs.

Tous les échantillons testés dont les valeurs de D.O. sont supérieures à la valeur du témoin seuil sont considérés comme positifs et inversement.

Affections parasitaires	Nbre de sérums testés	Nbre de sérums positifs
Bilharziose	25	0
Distomatose	1	1
Hydatidose	6	5
Nématodoses	22	13
Trichinose	10	4
Toxocarose	11	0

Tableau 1:

étude des réactions croisées avec l'Elisa *Acanthocheilonema viteae* (Bordier Affinity Products)

* nématodoses: présence de larves de *Strongyloides stercoralis* ou d'œufs d'Ankylostomidés.

Discussion

- Le seuil fixé par le fabricant est applicable à notre population : toutes les DO des sérums de sujets sains étaient inférieures à la moitié de celle du sérum seuil.
- Les réactions croisées observées ont été précédemment décrites. L'antigène hétérologue utilisé, d'obtention plus aisée pour la préparation du réactif, croise avec pratiquement tous les némathelminthiases, le kyste hydatique et la fasciolose.
- Ces réactions croisées peuvent être mises à profit dans l'aide au diagnostic des nématodoses pour lesquelles il manque des réactifs sensibles et spécifiques. Le contexte épidémiologique et clinique, l'observation de réactions positives pour d'autres sérologies et la présence de parasites à l'examen direct permet la différenciation entre une réaction positive spécifique et une réaction croisée.
- La sensibilité et la spécificité de ce réactif sont donc satisfaisantes pour la filariose, une parasitose souvent sérologiquement muette quand les patients ont des parasitémies détectables.