

EVALUATION D'UN REACTIF ELISA POUR LA SEROLOGIE DE L'ANGUILLULOSE

Sandrine HOUZE¹, Leila EISELE², Lydia VASLIN¹, François MARTINEAU, 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

L'anguillulose est une parasitose digestive provoquée par *Strongyloides stercoralis*. L'anguillulose maligne, caractérisée par une prolifération massive des larves et leur dissémination dans tout l'organisme, représente la gravité potentielle de cette parasitose dont la prévention repose sur le dépistage des porteurs asymptomatiques.

Le diagnostic de l'anguillulose repose sur la présentation clinique, un séjour en zone tropicale, l'hyper-éosinophilie, et la mise en évidence des larves dans les prélèvements par des techniques sensibles (méthode de Baermann). Cependant, ce diagnostic parasitologique peut-être en défaut. La sérologie par immunofluorescence indirecte (IFI) sur coupes à congélation de larves de *Strongyloides stercoralis* a été proposée et apporte une aide au diagnostic cependant cette technique impose la réalisation de réactif propre au laboratoire¹. Les antigènes extraits de *Strongyloides ratti* peuvent également être utilisés comme antigènes hétérologues pour la sérologie de l'anguillulose². Au cours de l'évaluation d'un réactif ELISA utilisant des antigènes de *Strongyloides ratti* produit par Bordier Affinity Products SA, nous avons étudié la sensibilité et la spécificité de celui-ci dans la sérologie de l'anguillulose.

Matériel et méthodes

Sérums étudiés:

- cent sérums de donneurs sains (CTS de Lausanne)
- dix-neuf sérums hémolysés, 16 sérums lipémiques, 12 sérums ictériques
- dix sérums de sujets sains (femmes enceintes)
- quarante-huit sérums cryoconservés à -20°C, issus de patients de Médecine Tropicale, considérés positifs pour l'anguillulose sur la présence de larves de *Strongyloides stercoralis* à l'examen parasitologique des selles.
- trente et un sérums cryoconservés à -20°C, issus de patients présentant des pathologies diverses inclus pour la recherche de réactions croisées avec le réactif évalué: bilharziose, cysticercose, filariose, hydatidose, toxocarose viscérale
- douze sérums cryoconservés à -20°C, issus de patients ayant une réponse sérologique en faveur d'une nématodose non identifiée, les recherches parasitologiques ayant été négatives ou non effectuées.

Réactif évalué :

Strongyloides ratti, trousse ELISA pour le diagnostic de l'anguillulose humaine, dont les puits des barrettes sécables sont recouverts d'extraits de larves de *Strongyloides ratti*. 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.

Conclusion

La réactif ELISA pour le diagnostic de l'anguillulose proposé par Bordier Affinity Products SA permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques. La méthodologie ELISA permet un résultat objectif non opérateur dépendant par rapport au technique d'immunofluorescence indirecte. 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 contexte clinique et épidémiologique permet d'interpréter les résultats obtenus et de différencier les réactions non spécifiques des vrais résultats positifs. La recherche de larves de *Strongyloides stercoralis* reste indispensable chez les patients à risque.

Bibliographie

1. Antibodies to *Strongyloides stercoralis* larval surface antigens in chronic strongyloidiasis. Genta RM, Weil GJ. Lab. Invest. 1982; 47: 87-90.
2. *Strongyloides ratti* antigenic components recognized by Ig E antibodies in immunoblotting as an additional tool for improving the immunodiagnosis in human strongyloidiasis. Rodrigues R. et al. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99: 89-93.
3. Strongyloidiasis: challenges in diagnosis and management in non-endemic Kuwait. Hira PR et al. Ann Trop Med Parasitol. 2004; 98: 261-70.
4. Clinical presentation and diagnostic sensitivity of laboratory tests for *Strongyloides stercoralis* in travellers compared with immigrants in a non-endemic country. Sudarshi A. et al. Trop Med Int Health. 2003; 8: 728-732.
5. The value of an immunoenzymatic test (enzyme-linked immunosorbent assay) for the diagnosis of strongyloidiasis in patients immunosuppressed by hematologic malignancies. Schaffel R. et al. Am J Trop Med Hyg. 2001; 65: 346- 350.

Résultats

Vérification du seuil de positivité:

Sur les sérums de donneurs sains, la spécificité est de 94%. Aucune interférence particulière n'a été relevée avec les sérums anormaux (hémolysés, lipémiques, ictériques).

Spécificité:

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

Evaluation de la sensibilité

Sur les 48 sérums considérés positifs, une réaction positive en Elisa a été observée pour 42 d'entre-eux. D'après ces résultats, la sensibilité du réactif évaluée sur les sérums de patients atteints d'anguillulose est de 88%.

Affections parasitaires	Nombre de sérums testés	Nombre de sérums positifs
Bilharziose	13	3
Cysticercose	1	0
Filariose	4	0
Hydatidose	6	0
Nématodose	12	8
Toxocarose	7	0

Tableau 1: étude des réactions croisées avec l'Elisa *Strongyloides ratti* (Bordier Affinity Products)

Discussion

- Le seuil fixé par le fabricant est applicable à notre population avec une spécificité de 94%
- Les réactions croisées observées ont été précédemment décrites³. L'antigène hétérologue utilisé, d'obtention plus aisée pour la préparation du réactif, croise avec les nématodose et la bilharziose dans notre étude. Cependant, d'autres réactions croisées peuvent être observées.
- 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 l'anguillulose⁴. Cependant, un examen négatif ne permet pas d'exclure totalement l'affection et un examen parasitologique doit être systématiquement associé chez tous les patients suspects avant mise sous traitement par les corticoïdes⁵.