

Apport d'une Trousse ELISA *Leishmania infantum* pour le Diagnostic sérologique de la Leishmaniose générale du Chien en Zone d'Endémie

Gharbi M.*; Ben Kirane H.*; Aoun. K.**; Bouratbine A.**; Eiselé Ben Miled L.***; Sassi L.*; Haddad S.**** et Darghouth M. A.*

* Laboratoire de Parasitologie, Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, 2020 Sidi Thabet, Tunisie.

** Laboratoire de Parasitologie clinique, Institut Pasteur de Tunis, BP. 74 Tunis-Belvédère, Tunisie.

*** Bordier Affinity Products SA. Crissier, Suisse.

**** Ministère de la Défense Nationale, Tunisie.

INTRODUCTION

La leishmaniose générale du chien est une parasitose dominante en Tunisie et dans plusieurs pays du pourtour méditerranéen, provoquée par *Leishmania infantum*. Outre son importance en santé animale, cette parasitose est une zoonose majeure touchant surtout l'enfant. Néanmoins, son incidence est de plus en plus élevée en Tunisie (150 nouveaux cas / an) (1).

La confirmation des cas suspects de leishmaniose générale repose en premier lieu sur la mise en évidence des leishmanies sur des étalements d'organes du système des phagocytes mononucléés colorés au Giemsa. Cependant, cette technique manque de sensibilité, ce qui impose le recours à un diagnostic sérologique. Deux techniques sérologiques sont employées en routine chez le chien, l'ImmunoFluorescence Indirecte (IFI) et l'Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA).

Le présent travail se propose d'évaluer l'intérêt d'une nouvelle trousse ELISA (Bordier Affinity Products SA, Crissier, Suisse) pour le dépistage et le diagnostic sérologique de la leishmaniose générale chez le chien.

MATERIEL ET METHODES

Sérums

Les sérums utilisés ont été collectés entre Septembre 2001 et Mars 2003, ils proviennent de 111 chiens.

- 106 Chiens suspects de leishmaniose
- 5 Chiens témoins négatifs *

* Chiots sevrés nés en hiver et dont le sérum a été collecté avant la saison d'activité des phlébotomes

Les sérums ont été aliquotés dans des tubes Eppendorf et stockés à -20°C. Les sérums ont été testés en IFI et en ELISA à l'aveugle.

ImmunoFluorescence Indirecte

L'IFI a été effectuée au Laboratoire de Parasitologie Clinique de l'Institut Pasteur de Tunis selon le protocole classique et au seuil de positivité de 1/100.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay

L'ELISA a été effectuée au Laboratoire de Parasitologie de l'Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire de Sidi Thabet, avec une trousse ELISA 96 puits (Bordier Affinity Products SA, Crissier, Suisse) selon les recommandations du fabricant (2, 3, 4).

La trousse contient tous les réactifs nécessaires dont les sérums témoins (négatif, seuil et fortement positif). Le conjugué utilisé est la Protéine A Phosphatase Alcaline. La mesure de l'absorbance a été effectuée à la longueur d'onde 405 nm et la longueur d'onde différentielle de 630 nm avec un lecteur ELISA (StatFax 2100).

La détermination de la concentration en anticorps des sérums a été calculée grâce à une courbe étalon où le sérum positif du kit a une valeur de 100 unités arbitraire (UA).

RESULTATS

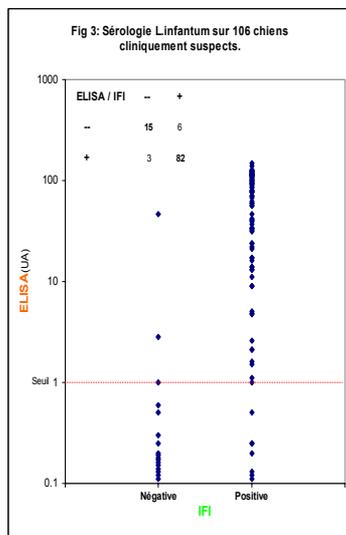
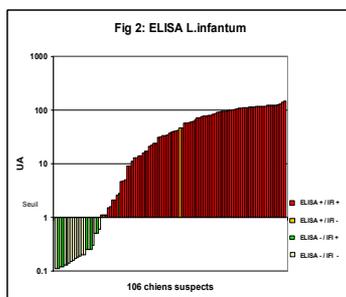
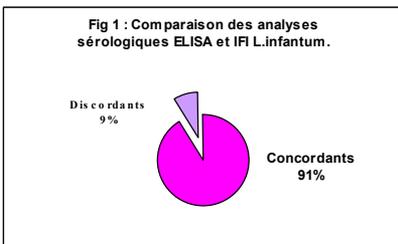
Les sérums des 5 chiens témoins étaient négatifs en IFI et en ELISA. Le seuil de l'ELISA fixé à 1 UA a été calculé à partir de la moyenne des unités arbitraires des sérums négatifs plus trois écarts-types.

La figure 1 montre le pourcentage de concordance entre les sérologies en IFI et en ELISA des 106 chiens suspects.

La figure 2 montre les concentrations en anticorps des sérums des chiens suspects.

La figure 3 montre la distribution des concentrations en anticorps des sérums des chiens suspects en fonction des résultats de l'IFI.

Six des résultats discordants (sur les 9 sérums) sont en majorité représentés par des animaux suspects cliniques présentant des titres faibles ou modérés en IFI associés à une ELISA négative.



DISCUSSION

Grâce aux progrès enregistrés dans les thérapeutiques anti-leishmaniennes, les propriétaires optent de plus en plus pour le traitement de leurs chiens leishmaniens. Or, cette décision nécessite une prise en charge précoce de l'animal d'où l'intérêt de la sérologie dans le diagnostic de la maladie et le suivi du traitement.

A notre connaissance, ce travail est le premier à évaluer la présente trousse ELISA dans le dépistage et le diagnostic de la leishmaniose à *Leishmania infantum* chez le chien.

Comparée à l'IFI, l'ELISA est une technique plus rapide, moins fastidieuse et dont la lecture n'est pas subjective. De plus, la trousse ELISA leishmaniose (Bordier Affinity Products SA, Crissier, Suisse) offre des avantages pratiques :

- Facilité d'utilisation
- Présence de barrettes sécables, ce qui permet de les utiliser sur un effectif réduit de sérums.

REFERENCES

1. Aoun K., Bouratbine A., Chahed M. et Ben Smail R. (2000) Apport du test d'agglutination directe dans le diagnostic de la leishmaniose viscérale en Tunisie. *Tunisie Méd.* 78 (12) : 719 - 722.
2. Badaro R., Reed S. G., Barral A., Orge G. and Jones T. C. (1986) Evaluation of the micro-enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies in the american visceral leishmaniasis: antigen selection for detection of infection specific responses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35 (1) 72 - 78.
3. Deleigne G., Deniau M., Matheron S., Lepout S. et Lebras J. (1994) Leishmaniose viscérale au cours de l'infection VIH : avantages du sérodiagnostic par technique ELISA. *Presse Méd.* 23 (14) 672 - 673.
4. Nassar N., Gangneux J. P., Sulahian A. et Derouin F. (1996) Leishmaniose viscérale au cours du SIDA : difficultés du diagnostic sérologique, évaluation d'une nouvelle trousse ELISA. *Feuilles de Biologie.* 37 : 39 - 42.
5. Bouyer J., Hémon D., Cordier S., Derriennic F., Stucker I., Stengel B. et Clavel J. (1993) *Epidémiologie : principes et méthodes quantitatives.* Ed. INSERM, Paris, France. 490 pp.