

EVALUATION DE L'INFESTATION PAR *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* DES CHIENS PAR LE TEST E.L.I.S.A

Reçu le 13/11/2006 – Accepté le 26/04/2008

Résumé

En Algérie, le chien est le principal réservoir de l'infection à *Echinococcus granulosus* pour les animaux domestiques et pour l'homme (hôtes intermédiaires). Actuellement, il n'existe aucune estimation du taux d'infestation des chiens, alors que la prévalence de l'infestation de l'hôte définitif est l'indicateur le plus fiable du risque potentiel de la transmission de l'hydatidose à l'homme et aux animaux (H.I.). Les auteurs, après standardisation du test E.L.I.S.A., ont évalué la prévalence de l'échinococcose des chiens dans deux régions de l'Algérie. L'optimisation de la technique a été obtenue avec une dilution des sérums au 1/25^{ème} et du conjugué enzymatique au 1/1000^{ème}, avec 50 µl de T.M.B. et de 2 gouttes de solution d'arrêt, et une incubation à 37°C. Les valeurs de l'absorbance (A450nm) des sérums de chiens testés par E.L.I.S.A. avec l'antigène somatique, les protoscolex (Px-SM), montrent sur 372 sérums au total, 163 étaient positifs (43,81%) avec des valeurs de A450nm comprises entre 0.950 et 2.510. L'étude comparative des résultats de la prévalence de l'infestation des chiens par *E. granulosus* a révélé que Constantine avec 145 sérums positifs pour 285 chiens testés (50,87%) est plus touchée que Sétif avec 18 sérums positifs seulement sur 87 chiens testés (20,68%). A l'intérieur de Constantine, les zones rurales sont plus atteintes que la zone urbaine, 105 sérums positifs sur 178 en rural (58,98%) et 40 sérums positifs sur 107 en zone urbaine (37,38%). Le test sérologique E.L.I.S.A. constitue un bon outil de diagnostic de l'échinococcose du chien, et pourrait être appliqué sur une grande échelle pour déterminer les régions à forte endémicité en association avec les mesures de contrôle existantes.

Mot clés : *Echinococcus granulosus*, chiens, prévalence, E.L.I.S.A

Abstract

In Algeria, the dog is the main reservoir of infection *Echinococcus granulosus* for pets and humans (hosts). Presently, there is no estimate of the rate of infestation of the dogs, while the prevalence of infection of the definitive host is the single most reliable indicator of the potential risk of transmission of hydatidosis to humans and animals (H.I.). The authors, after E.L.I.S.A. standardized test, it has been estimated that a tapeworm of dogs in two regions of Algeria. The optimization of the technique has been performed with a serum dilution of the 1/25th and the enzyme conjugate 1/1000^{ème}, with 50 µl T.M.B. And two drops of solution arrest, and incubation at 37 ° C. The values of the absorbance (A450nm) serums dogs tested by E.L.I.S.A. with somatic antigen, protoscolex (Px-SM), serums show on 372 total, 163 were positive (43.81%) with the values of A450nm between 0950 and 2510. The comparative study of the results of the prevalence of infection by *E. dogs Granulosus* revealed that Constantine with 145 sera positive for 285 dogs tested (50.87%) that was most affected with 18 Sétif only positive sera of 87 dogs tested (20.68%). Within Constantine, rural areas are most affected as the urban area, 105 out of 178 positive sera in rural (58.98%) and 40 out of 107 positive sera in urban areas (37.38%). The serological test E.L.I.S.A constitutes a good diagnostic tool of the dog tapeworm, and could be applied on a large scale to determine the areas of high endemicity in combination with existing control measures.

Keywords: *Echinococcus granulosus*, dogs, prevalence, E.L.I.S.A

M. C. BENCHIKH-ELFEGOUN¹
A. BENAKHLA²
B. BENTOUNSI¹
H. BERERHI¹
A. SFAKSI³
H. DUMON⁴
R. PIARROUX⁵

¹Laboratoire de Parasitologie,
Département des Sciences
Vétérinaires, Faculté des Sciences,
Université Mentouri, Constantine,
Algérie.

²Laboratoire de Parasitologie,
Centre Universitaire El Tarf.
Algérie.

³Laboratoire Régional Vétérinaire,
Constantine. Algérie.

⁴Laboratoire de Parasitologie,
Hôpital Universitaire La Timone,
Marseille, France.

⁵Santé et Environnement Rural en
Franche-Comté, Centre
collaborateur de l'OMS pour la
prévention et le traitement des
échinococcoses humaines,
Université de Franche-Comté,
France.

ملخص

تقييم عدوى الكلاب بـ *Echinococcus granulosus* عن طريق فحص E.L.I.S.A. في منطقتين من الجزائر.

في الجزائر، يعتبر الكلب هو الحامل الأساسي للعدوى بـ *Echinococcus granulosus* عند الحيوانات الأليفة و الإنسان (مستقبل وسيط). حالياً لا يوجد أي تقييم لنسبة العدوى عند الكلاب. تقييم نسبة العدوى عند المستقبل النهائي هي الدال *Echinococcus granulosus* الاكيد للخطر الشديد في انتقال الكلاب في منطقتين من الجزائر *Echinococcus granulosus* ل ايضا الكاتب بعد التثبيت من التقنية بقيم التقنية و قطرتين TMB من 50 µl بـ 1/1000 انزيمية Conjugué و 1/25 تثبيت التقنية تحصلنا عليها بتخفيف المصل الى لمصل الكلاب المدروس ب A450nm قيم الامتصاص 37°C من محلول التثبيت و تحظين في درجة الحرارة (43,81%) اجابية 163 مصل 372 التقنية توضح انه على protoscolex somatiques بمولد الضد E.L.I.S.A. الدراسة المقارنة لنتائج التقنية لعدوى الكلاب ب (0.950 – 2.510). محصورة بين A450nm (50,87%) كلب مدروس 285 مصل اجابي ل 145 بينت ان قسطنطينية تحتوي على *Echinococcus granulosus* المناطق الريفية داخل قسطنطينية. (20,68%) كلب مدروس 87 مصل اجابي فقط على 18 اكثر مساس من سطيف مصل اجابي 40 و (58,98%) في المناطق الريفية 178 مصل اجابي على 105 اكثر تعرضا من المناطق الحضرية (37,38%) في المناطق الحضرية 107 على بارغم من حساسية وسطية مقدمة من عدة باحثين تكون اداة جيدة في التشخيص ل E.L.I.S.A. و الاختبار الدموي هذه التقنية الخاصة يمكن تطبيقها على سلم واسع من اجل تحديد المناطق اللكت. عند الكلاب *Echinococcose* تعرضا للمرض بلاضافة الى قياسات المراقبة الموجودة

الكلمات المفتاحية : *Echinococcus granulosus*, الكلاب, التقييم, E.L.I.S.A.

En Afrique du Nord, le chien est considéré comme le principal réservoir de l'infection à *Echinococcus granulosus* pour les animaux domestiques et pour l'homme, hôtes intermédiaires (PAMPIGLIONE, 1965; DAKKAK, 1992; IBRAHIM et GUSBI, 1997. Actuellement, il n'existe aucune estimation du taux d'infestation des chiens en Algérie. Ce paramètre constitue pourtant un indicateur très fiable du risque potentiel de la transmission de l'hydatidose à l'homme et aux animaux. Pour pallier à ce manque de données une étude a été réalisée pour évaluer la prévalence de l'infestation à *Echinococcus granulosus* chez les chiens dans deux régions endémiques de l'Algérie (Constantine et Sétif) dont la prévalence de l'hydatidose chez le bétail est estimée à 12,8% (BARDONNET et al. 2003).

L'évaluation de la prévalence de l'infestation des chiens à l'autopsie est de loin la plus fiable. Cependant, cette méthode est sujette à plusieurs difficultés incluant le risque de contamination des manipulateurs avec les échantillons préparés (CRAIG, 1997). Le diagnostic ante-mortem de l'infection a communément été effectué par identification des cestodes adultes après purgation au bromhydrate d'arécoline, mais cette méthode a un intérêt limité: ce test est long, hasardeux, nécessite le maintien des chiens à l'attache jusqu'à leur purge, suivi par un faible pouvoir d'analyse microscopique de la purge complète. De plus, cette méthode manque de sensibilité notamment chez les chiens faiblement infestés, et les résultats obtenus sont sous-évalués (GASSER et al., 1990; WACHIRA et al., 1990; SCHANTZ, 1997). En outre, la manipulation et l'examen des fèces exposent le personnel de contrôle au risque de contamination.

Aujourd'hui, une nouvelle approche dans le diagnostic ante-mortem de l'échinococcose du chien est proposée, le diagnostic immunologique par la technique E.L.I.S.A. Ce test a montré une bonne sensibilité et un degré élevé de spécificité pour la détection des anticorps circulants. (HEATH et al., 1985 ; JENKINS et al., 1985 ; GASSER et al., 1988 ; AHMAD et NIZAMI, 1997). Le choix de ce test est justifié par sa réalisation facile, rapide et sans risque. De plus, il permet d'analyser simultanément un grand nombre d'échantillons et offre une lecture entièrement objective.

MATERIELS ET METHODES

Situation des régions d'étude

Constantine et Sétif sont deux régions de l'intérieur de l'Algérie, elles sont situées à 600 mètres d'altitude et à 80 kms du littoral et 1000 mètres d'altitude et 250 km de la mer respectivement. Elles bénéficient d'un climat humide et froid en hiver et chaud et sec en été (Figure1).

1/ Antigènes

1.1/ Extraction des protoscolex

Les antigènes somatiques d'*Echinococcus granulosus* ont été préparés à partir de protoscolex provenant des kystes hydatiques des foies et poumons de bovins naturellement infestés. Les kystes ont été obtenus à partir

des abattoirs de Constantine (Algérie), emballés dans la glace et transportés réfrigérés jusqu'au laboratoire. Les organes parasités ont été utilisés très rapidement, le jour même de leur prélèvement.

Les protoscolex aspirés, ont été tamisés deux fois à travers une double couche de gaze puis centrifugés à 3500 tours / mn pendant 5 mn. Les protoscolex ont été lavés 3 fois dans 10 fois leur volume dans une solution de sérum physiologique stérile par centrifugation à 600 G pendant 5 mn, les culots de protoscolex ont été aliquotés puis conservés à -70°C.

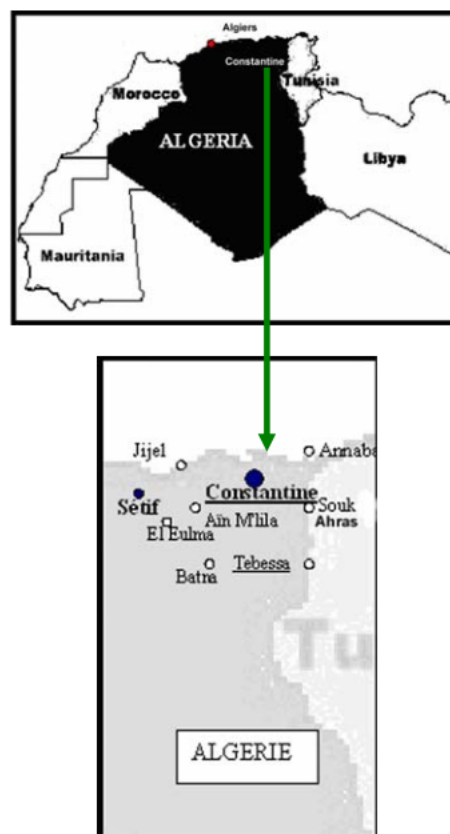


Figure 1 : Régions d'étude.

1.2/ Préparation de l'antigène

La préparation de l'antigène et la sensibilisation des microplaques pour le test E.L.I.S.A. ont été faites selon le protocole décrit par GASSER et al. (1988).

Mise en suspension

Après décongélation, les protoscolex ont été mis en suspension dans deux fois leur volume de tampon: 20 mM Tris / HCl, pH 8, contenant 1% de DOC (dexoxycholate de sodium) ; 2 mM phénylméthylsulfonylfluoride (1740 19) ; 100 UI / ml d'aprotinine (inhibiteur de protéase) ; soit une solution totale à préparer pour 50 ml : 1ml de la solution Tris / HCl, pH8 ; 0,5 g de DOC ; 5000 UI d'aprotinine.

Extraction de l'antigène par ultrasons

Les protoscolex sont ensuite désintégrés par ultrasons (150 W) sur la glace pendant 15 mn (15µ pic à pic, 5 sec « on », 10 sec « off »), puis centrifugation du sonicate à 10000 G à + 4°C pendant 15 mn, et dialyse du surnageant pendant 48 heures contre 5 changements de 500 fois le volume du surnageant de tampon MT-PBS (16 mM Na_2HPO_4 + 4 mM NaH_2PO_4 + 2 H_2O + 150 mM NaCl, à pH 7,3).

La concentration protéinique des protoscolex après sonication (Px SM) a été déterminée (selon BRADFORD, 1976), et a été dosée à 0,5 mg / ml.

L'antigène a été stocké et conservé dans des parties aliquotées de 200 µl à -70 ° C.

1.3/ Fixation de l'antigène

Dans le test E.L.I.S.A., les plaques utilisées sont des plaques à fond plat (96 puits) (GREINER et SONS, NUERTINGEN, FRG, art. n°655061, batch n° 241642) et ont été enduites avec 50µl par puits de Px SM dosé à 5µg / ml de protéines. Le surnageant a été dilué au 100^{ème} pour un aliquote de 200 µl de surnageant dosé à 0,5 mg / ml, il faut : 200 µl X 100 = 20 ml de tampon.

Les microplaques ont été scellées de paraffine et incubées pendant 14 heures à + 4 ° C Après sensibilisation par l'antigène, les microplaques sont lavées trois fois, avec 300 µl par puits, de tampon MT-PBS contenant 0,3 % v / v de Tween 20 et 0,02 % v / v d'azide de Na : NaN_3 (MT-PBS). Pour 1 litre de MT-PBS, sont ajoutés 3 ml de Tween 20 et 0,2 g NaN_3 (azide de Na).

Les microplaques sont tapées, séchées et remplies ensuite par 100 µl de tampon MT-PBS-T contenant 5 % v / v de lait écrémé en poudre (Gloria) par puits (BLOTTO, JOHNSON et al. 1984) : pour 1 litre MT-PBS-T, il faut 50 g de lait écrémé. Après incubation pendant 30 mn à 37°C, les microplaques sont vidées, séchées, puis scellées et conservées à -20°C. La préparation de l'antigène et la sensibilisation des microplaques pour le test E.L.I.S.A. a été faite selon le protocole décrit par GASSER et coll., (1988).

2/ Recueil des sérums

Notre étude a porté sur 372 sérums de chiens provenant de deux régions endémiques de l'Est de l'Algérie :

i/ **Constantine** : zone urbaine 107 sérums, zone rurale 178 sérums prélevés sur des lieux différents : Hamma Bouziane, Ibn Ziad et Zighoud Youcef. Constantine ville: 107 sérum.

ii/ **Sétif** : 87 sérums provenant tous de chiens vivant en zone rurale.

Les sérums ont été prélevés à la veine radiale de tous les chiens. Ils ont été récupérés par centrifugation à 3000 g puis stockés à -20°C.

3/Technique de l'E.L.I.S.A.

Une pré dilution au 25^{ème} a été faite sur les échantillons de sérums de chiens à tester en rajoutant 8 µl de sérum à 192 µl de tampon MT-PBS-TG.

Les sérums à tester et les sérums témoins ont été incubés avec l'antigène à 37°C pendant 30 min (50 µl de sérum dilué au 25^{ème} dans chaque puits sur les plaques préalablement remises à température ambiante).

Le sérum conjugué purifié anti-IgG de chien, lié à la peroxydase, dilué au 1/1000^{ème} dans le tampon MT-PBS-TG, a été additionné puis incubé à 37°C durant 30 min. Les plaques ont été incubées pendant 30 min. à 37°C (50µl par puits). Les lavages entre les différentes incubations ont été faits avec du tampon de lavage MT-PBS-T. Les plaques ont été vidées par retournement, puis lavées une fois avec le tampon MT-PBS-T, 4 fois avec de l'eau désionisée, purifiées à osmose, renversées et tapées sec. 50µl d'une solution de substrat (TMB) a été ajoutée. ?

Sérums, témoins positif et négatif

- **témoins négatifs** : il s'agit de chiens urbains vivant en France n'ayant jamais eu de contact avec le kyste hydatique et dont les valeurs de densité optique (DO) au test E.L.I.S.A. sont très basses.

- **témoin positif** : une chienne âgée d'un an, sans pedigree, a été isolée et vermifugée à l'encontre des cestodes éventuels avec le praziquantel (DRONCIT, ND) à la posologie de 5mg/kg de P.V. Une semaine plus tard, la chienne a subi une infestation expérimentale avec une suspension de protoscolex par voie buccale (environ 2000 protoscolex).

La vitalité des protoscolex a été au préalable appréciée par rapport à l'activité des cellules flammes : un échantillon de protoscolex a été placé sur une lame porte-objet et examiné au microscope (10 X 40). L'examen des protoscolex vivants mis auparavant dans une étuve à 37°C révèle une mobilité des cellules flammes. La viabilité des scolex a été aussi mise en évidence par l'utilisation d'un colorant vital, l'éosine aqueuse à 1% : les scolex vivants ne se colorent pas en présence de quelques gouttes d'éosine, alors que les scolex morts prennent le colorant et apparaissent rouge foncé. Le prélèvement sanguin a été effectué sur la chienne 35 jours après l'infestation, et le sérum récupéré a servi de témoin positif.

4/ Standardisation de la technique E.L.I.S.A

Pour standardiser le test E.L.I.S.A., des essais sur des sérums de chiens ont été réalisés avec des dilutions variables de sérums. Des quantités variables de TMB (3,3',5,5'-Tétraméthylbenzidine): solution de substrat-péroxydase, ainsi que des volumes variables de solution d'arrêt: 0,5M H_2SO_4 ont été utilisés.

Différents essais

- variation de TMB

Avec 200 µl de TMB, la différence des D.O. entre les sérums les plus bas et les plus élevés était faible: 1,1. Cependant, avec 100 µl de TMB, l'écart est relativement plus important: 2 à température ambiante et 1,7 à 37°C sous agitateur.

- variation de la quantité de la solution d'arrêt

Avec 25µl de solution d'arrêt, la différence de D.O. entre le sérum minimum et sérum maximum est de 0,6, par contre avec 50µl de solution d'arrêt, la différence de D.O. est de 1,2, alors qu'avec 100µl, la différence de D.O. est de 1,8.

- variation du temps d'incubation antigène-anticorps

A 620 nm, des lectures sont faites à 5, 10, 15, 20, 25 et 30 mn.

Le blanc reste inchangé, par contre le témoin négatif atteint un pic après 5 mn d'incubation, puis commence à baisser à partir de 10 mn pour se stabiliser à partir de 20, 25 mn.

Les sérums étudiés évoluent de la même manière que le témoin négatif avec un pic très élevé après 5 et 10mn puis chutent de manière moins rapide que le témoin négatif pour se stabiliser vers 30 mn d'incubation.

- variation de la dilution des sérums

Des dilutions en cascade ont été faites: 12^{ème}, 25^{ème}, 50^{ème} et au 100^{ème}. Les valeurs de D.O. pour le témoin négatif restent inchangées. Les sérums testés à la dilution au 12^{ème} avaient une D.O. élevée d'emblée, par contre pour les dilutions aux 25^{ème}, 50^{ème} et au 100^{ème}, les valeurs de D.O. demeuraient presque identiques.

A noter que les sérums dont les valeurs de leur D.O. étaient limites au seuil de positivité à la dilution au 25^{ème}, ont vu leur D.O. baisser au 50^{ème} et au 100^{ème}. La meilleure linéarité de la courbe a été obtenue avec la dilution au 25^{ème}.

- variation de la dilution du conjugué enzymatique

Le conjugué enzymatique a été utilisé à différentes dilutions: 1/1000, 1/750, 1/500 et 1/300.

A la dilution au 1/300, la différence de D.O. est de 0,3, au 1/500, elle est de 0,7, par contre au 1/1000, elle est de 1,05, ceci pour une dilution du sérum au 1/25.

La meilleure linéarité de la courbe est donc obtenue aux dilutions du sérum au 1/25, et du conjugué enzymatique au 1/1000.

- variation du temps de révélation

Après 15, 25, et 30 mn de révélation à 37°C ceux-ci pour une lecture faite à 620 nm, on note que la différence

de D.O. entre le sérum le plus bas et le sérum le plus élevé est augmentée.

Les différents essais ont permis de standardiser la technique en agissant sur différents paramètres, et l'optimisation a été obtenue avec les données suivantes:

- une dilution des sérums au 25^{ème} et du conjugué enzymatique au 1000^{ème}
- l'utilisation de TMB à 50 µl et 2 gouttes de solution d'arrêt.
- une température d'incubation à 37°C donne des résultats plus stables que la température ambiante.

L'étude a été faite plusieurs fois sur les mêmes sérums pour tester la reproductibilité de la technique. Les résultats obtenus se situent tous dans la même fourchette, pour les différents sérums testés. L'E.L.I.S.A. est reproductible.

- validité du test E.L.I.S.A.

Le test E.L.I.S.A. a été validé avec 30 sérums de chiens négatifs provenant tous de Marseille, dont les valeurs de l'absorbance (DO) sont les suivantes:

0,640 - 0,620 - 0,600 - 0,560 - 0,580 - 0,800 - 0,900 - 0,700 - 0,950 - 0,940 - 0,740 - 0,615 - 0,580 - 0,680 - 0,840 - 0,550 - 0,640 - 0,800 - 0,875 - 0,850 - 0,620 - 0,640 - 0,650 - 0,700 - 0,780 - 0,690 - 0,740 - 0,840 - 0,650 - 0,620

Après analyses sur EPI INFO, EXCEL et STAT VIEW, un seuil de positivité a été défini grâce aux résultats des chiens négatifs (seuil = 0,950 soit la moyenne des chiens négatifs + deux écarts-types).

RESULTATS

Sur 372 sérums testés au total, 163 (43,81 %) étaient positifs avec des valeurs de A450 nm comprises entre 0.950 et 2.510. De nombreux sérums ont donné des réactions fortement positives aux antigènes de protoscolex (A450 1.300 à 2.510).

Les résultats relatifs à la prévalence de l'infestation des chiens par *Echinococcus granulosus* dans les deux régions (Constantine et Sétif) sont consignés dans le tableau 1:

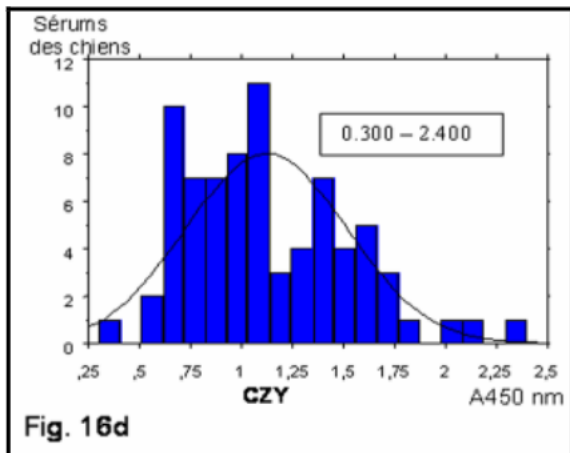
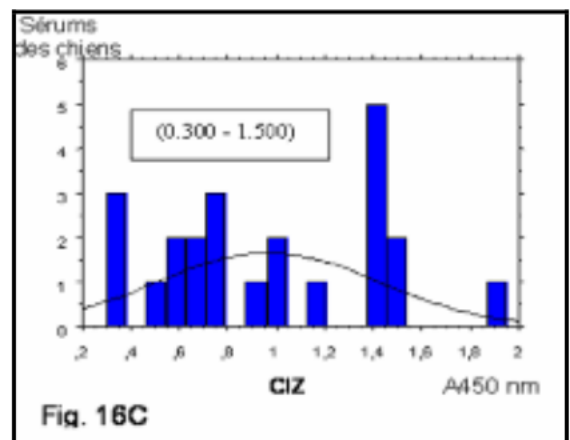
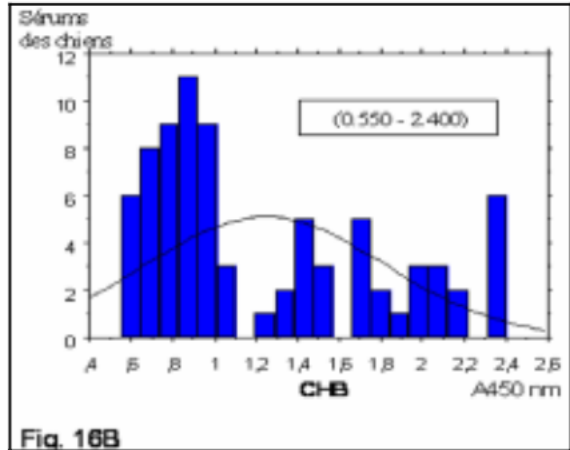
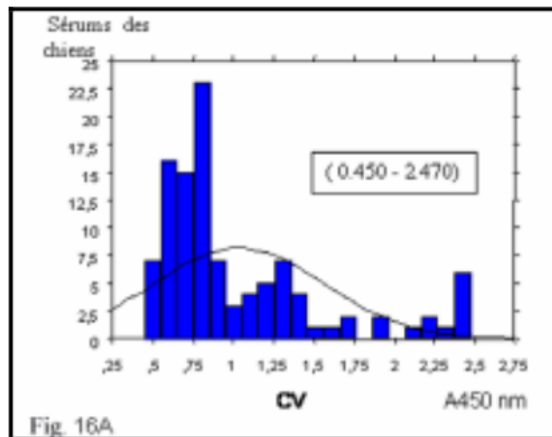
Tableau 1 : Prévalence du téniasis à *E. granulosus* chez les chiens de Constantine et Sétif.

Région	Nombre total de sérums	Nombre de sérums positifs	% de sérums positifs
Constantine (zone urbaine)	107	40	37,38
Constantine (zone rurale)	178	105	58,98
Sétif (zone rurale)	87	18	20,68

L'étude comparative des résultats de la prévalence du téniasis à *E. granulosus* des chiens a montré que Constantine, avec 145 (50,87%) sérums positifs pour 285 chiens testés est plus touchée que Sétif, avec 18 (20,68%) sérums positifs seulement sur 87 chiens testés ($p = 0.002$ test du Chi2).

A l'intérieur de Constantine, les zones rurales (regroupant les trois zones hors Constantine ville) sont plus touchées que la zone urbaine, 105 sérums positifs sur 178 soit 58,98 % en rural et 40 sérums positifs sur 107 en zone urbaine ($p = 0.0004$), soit 37,38 %.

Les valeurs de l'absorbance (DO) des sérums de chiens testés par E.L.I.S.A avec l'antigène somatique, les protocolex (Px-SM) selon les régions, sont indiquées dans les Figures 16 A, 16 B, 16 C et 16 D. Pour Constantine ville (C.V.), les valeurs obtenues sont comprises entre 0.450 et 2.470 (Fig. 16A) alors que dans la zone rurale, Ibn Ziad (CIZ), Hamma Bouziane (CHB) et Zighoud Youcef (CZY), elles sont comprises respectivement entre 0.300 et 1.500 (Fig. 16b), 0.560 et 2.400 (Fig. 16c), 0.300 et 2.400 (Fig. 16d).



DISCUSSION

A la lumière de ces résultats, on peut déduire que l'infestation des chiens par *E. granulosus* est très élevée quelle que soit la région (Constantine ou Sétif) et la zone étudiées (urbaine ou rurale). De plus, ces résultats viennent confirmer les forts taux d'infestation obtenus antérieurement dans les pays du Maghreb, par PAMPIGLIONE (1965) en Algérie: 33 %, mais aussi par DAKKAK et coll., (1992) au Maroc: 50 % et KILANI et coll., (1986) en Tunisie: 22,7 %, en zones rurales.

Actuellement, l'existence et la persistance des conditions favorables à la contamination des chiens (abattages familiaux, abattages clandestins, présence de chiens errants) justifient les taux d'infestation élevés trouvés dans notre étude en zone urbaine. Cette situation permet au cycle urbain de prendre de plus en plus d'importance.

La spécificité et la sensibilité ne peuvent être évaluées avec certitude dans nos essais, du fait que les autres moyens diagnostics n'ont pas été effectués d'une part, d'autre part des études ont révélé des faux positifs et des faux négatifs dus à plusieurs facteurs liés à l'hôte et au parasite (GASSER et al. 1988, 1989, 1990, 1991; GOTTSTEIN et al. 1991).

Plusieurs données ont été avancées pour expliquer les fausses réactions négatives: imitation moléculaire où les antigènes du parasite sont masqués par les molécules de l'hôte (RICKARD, 1983), une inactivation des mécanismes immuns par les molécules du parasite (MITCHELL, 1987), des différences génétiques liées au complexe d'histocompatibilité majeur du chien (WAKELIN, 1985; KENNEDY et al. 1990). De plus, il a été démontré que les chiens domestiques dont la charge parasitaire est inférieure 1000 vers, lors d'une primo infestation n'ont pas permis de détecter d'anticorps à l'encontre du parasite (BALDOCK et al., 1985; JENKINS, 1986).

En revanche, des réactions faussement positives, avec des titres d'anticorps anti-protoscolex élevés ont été rapportées chez des chiens apparemment non infestés.

Selon MACPHERSON et al. 1985, les chiens vivant au Turkana, région du Kenya à forte endémicité d'hydatidose, sont le plus souvent infestés ou réinfestés. Il est possible que des chiens aient éliminé spontanément les vers mais maintiennent des taux d'anticorps anti-protoscolex pendant de longues périodes (JENKINS et al. 1985; HEATH et al. 1988; GASSER et al. 1988).

CONCLUSION

L'évaluation de la sensibilité du test sérologique E.L.I.S.A. a été étudiée par (GASSER et al., 1988, 1989, 1990, 1991, 1992, 1993 et 1994) où des taux de sensibilité variables ont été rapportés: 72,7 % en Australie (GASSER et al., 1988), 60,9 % en Uruguay (GASSER et al., 1994).

L'antigène utilisé a été préparé à partir d'extraits somatiques de protoscolex d'*E. granulosus*. Dans une étude réalisée par GASSER et al. 1992, les antigènes somatiques de protoscolex ont été comparés avec les antigènes excrétoires /sécrétoires (E/S) pour le diagnostic de l'échinococcose des chiens. La sensibilité et la spécificité des tests E.L.I.S.A. selon le type d'antigène utilisé, ont été déterminées, et sont respectivement 80,8 % et 93,7 % pour E.L.I.S.A. Ag E/S et 75,6 / et 97,9 % pour E.L.I.S.A. Ag protoscolex. Les taux de spécificité enregistrés par GASSER et al., 1992, 1993, 1994, sont généralement plus élevés par rapport à la sensibilité: 97 % à 100 %.

Le test sérologique E.L.I.S.A., malgré une sensibilité moyenne, constitue un bon outil de diagnostic de l'échinococcose du chien plus performant que le test à l'arécoline. Ce test spécifique pourrait être utilisé dans le diagnostic d'une échinococcose ancienne ou récente chez les chiens, et serait appliqué sur une grande échelle pour déterminer les régions à haute endémicité en association avec les mesures de contrôle existantes.

REFERENCES

- [1]- AHMAD G., NIZAMI W.A. (1997). Partial purification of the protoscolex antigens and their possible role in the immunodiagnosis of echinococcosis. *Parasitol. Hung.* (in press).
- [2]- BABOS S. (1962). Untersuchungen über die serodiagnostik der Echinokokkose. *Angewandte Parasitologie* 3: 2-4.
- [3]- BALDOCK F.C., THOMPSON R.C.A., KUMARATILAKE L.M. and SHIELD J. (1985b). *Echinococcus granulosus* in farm dogs and dingoes in south eastern Queensland. *Australian Veterinary Journal*, 62, 335-337
- [4]- BARDONNET K., BENCHIKH-ELFEGOUN M.C., BART J.M., HARRAGA S., HANNACHE N., HADDAD S., DUMON H., VUITTON D.A., R. PIARROUX (2003). Cystic echinococcosis in Algeria: cattle act as reservoirs of a sheep strain and may contribute to human contamination. *Veterinary Parasitology* 116 (2003) 35-44.
- [5]- BARONET D., WALTNER-TOEWS D. (1994). *Echinococcus granulosus* infections in the dogs of Kathmandu, Nepal. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 88, (5), 485-492.
- [6]- BARRIGA O. O. and AL-KHALIDI N.W. (1986). Humoral immunity in the prepatent primary infection of dogs with *Echinococcus granulosus*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 11, 375-389.
- [7]- BRADFORD M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*, 72, 248-254.
- [8]- CRAIG P.S., MACPHERSON C.N.L., WATSON-JONES D.L. and NELSON G.S. (1988). Immunodetection of *Echinococcus* eggs from naturally infected dogs and from environmental contamination sites in settlements in Turkana, Kenya. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 82, 268-274

- [9]- CRAIG P.S., GASSER R.B., PARADA L., CABRERA P., PARIETTI S., BORGUES C., ACUTTIS A., AGULLA J., SNOWDEN K.,
- [10]- PAOLILLO E. (1995). Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody tests with arecoline purgation in Uruguay. *Veterinary Parasitology*, 56, 293-301.
- [11]- CRAIG P.S. (1997). Immunodiagnosis of *Echinococcus granulosus* and comparison of techniques for diagnosis of canine echinococcosis: in *Compendium on Cystic Echinococcosis in Africa and in Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Anderson E.E., Ouhelli H. and Kachani M. Brigham Young University Print Services, Provo, Ut 84602, USA, 345p.
- [12]- DAKKAK A. (1992). Geographical distribution and impact of echinococcosis on human, animal production and economic implications. In WHO Guidelines for Diagnosis, Surveillance and Control of Echinococcosis. *Veterinary Public Health, Communicable Disease Division, WHO 'Ed.)*. WHO, Geneva, Switzerland, 359p.
- [13]- GASSER R.B., LIGHTOWLERS M. W., OBENDORF D.L., JENKINS D.J. and RICKARD M.D. (1988). Evaluation of a serological test system for the diagnosis of natural *Echinococcus granulosus* infection in dogs using *E. granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Australian Veterinary Journal*, 65 (12), 369-373.
- [14]- GASSER R.B., LIGHTOWLERS M.W. and RICKARD M.D. (1989). Identification of protein components of *Echinococcus granulosus* protoscolex antigens for specific serodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *Parasite Immunology*, 11, 279-291.
- [15]- GASSER R.B., LIGHTOWLERS M.W. and GICKARD M.D. (1990). A recombinant antigen with potential for serodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *International Journal for Parasitology*, 20, 943-950.
- [16]- GASSER R.B., LIGHTOWLERS M.W. and RICKARD M.D. (1991). *Echinococcus granulosus*: antigenic proteins in oncospheres and on the surface of protoscoleces identified by serum antibodies from infected dogs. *Research in Veterinary Science*, 50: 340-345.
- [17]- GASSER R.B., JENKINS D.J., HEATH D.D. and LAWRENCE S.B. (1992). Use of *Echinococcus granulosus* worm antigens for immunodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 45, 89-100.
- [18]- GASSER R.B., JENKINS D.J., PAOLILLO E., PARADA L., CABRERA P. and CRAIG P.S. (1993). Serum antibodies in canine echinococcosis. *International Journal for Parasitology*, 23 (5), 579-586.
- [19]- GASSER R.B., PARADA L., ACUNA A., BURGESS C., LAURENSEN M.K., GUILLAND F.M.D., REICHEL M.P. and PAOLILLO E. (1994). Immunological assessment of exposure to *Echinococcus granulosus* in a rural dog population in Uruguay. *Acta Tropica*, 58, 179-185.
- [20]- HEATH D.D., LAWRENCE S.B. and OUDEMANS G. (1988). A blind test of the serological response of dogs to infection with *Teania ovis*. ?
- [21]- IBRAHEM M.M. and GUSBI A.M. (1997). Cystic echinococcosis in North Africa (excluding Morocco): Veterinary aspects. In: *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and middle eastern countries with a special reference to Morocco (1997)*, ed. Adersen F.I., Ouhelli H., Kachani M., pp. 207-222. Brigham Young University, Print Services, Provo, UT84 602, USA, 345p.
- [22]- JENKINS D.J. and RICKARD M.D. (1985). Specific antibody responses to *Teania hydatigena*, *Teania pisiformis*, *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *Australian Veterinary Journal*, 62 (3), 72-78.
- [23]- JENKINS D.J. and RICKARD M.D. (1986). Specific antibody responses in dogs experimentally infected with *Echinococcus granulosus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35, 345-349.
- [24]- JENKINS D.J., MORRIS B. (1995). Unusually heavy infection of *Echinococcus granulosus* in wild dogs in south eastern Australia. *Australian Veterinary Journal* 66, 36-37.
- [25]- KENNEDY M.W., TOMLINSON L.A., FRASER E.M., CHRISTIE J.F. (1990).

The specificity of the antibody response to internal antigens of *Ascaris*: heterogeneity in infected humans, and MHC (H-2) control of the repertoire in mice.

Clin Exp Immunol. May;80(2):219-24.

[26]- KILANI M., DARGHOUT M.A., LAHMAR S., JAOUA H. and JEMLI M.H. (1986). Rôle du chien dans l'épidémiologie du kyste hydatique en Tunisie. *La Tunisie Medicale* 64, 333-337.

[27]- MACPHERSON C.N.L., FRENCH C.M., STEVENSON P., KARSTAD L., and ARUNDEL J.J. (1985). Hydatid disease in the Turkana District of Kenya, IV. The prevalence of *Echinococcus granulosus* infections in dogs, and observations on the role of the dog in the lifestyle of the Turkana. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 79, 51-61.

[28]- RICKARD M.D. (1983). In *Biology of the Eucestoda (Volume 2)*, edited by C Arme and PW Pappas, Academic Press, London, p. 539.

[29]- WACHIRA T. M., MACPHERSON C. N. L. and GATHUMA J. M. (1990). Hydatid disease in Turkana district. VII. Analysis of infection pressure between definitive and intermediate hosts of *Echinococcus granulosus*. 1979 - 1988.

[30]- WAKELIN D., DONACHIE A.M., GRENCIS RK. (1985). Genetic control of immunity to *Trichinella spiralis* in mice: capacity of cells from slow responder mice to transfer immunity in syngeneic and F1 hybrid recipients. *Immunology.* Oct;56(2):203-11.

