

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

**ABZ:** Albendazole

**Ag:** Antigène

**BSA:** Bovine serum albumin

**DO:** Densité optique

**EIBT:** Enzyme Linked Immuno-électrotransfert Blot assay

**ELISA:** Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay

**Ig:** Immunoglobulines

**IL:** Interleukine

**IRM:** Imagerie par résonance magnétique

**LCR:** Liquide céphalo-rachidien

**NCC:** Neurocysticercose

**OPD:** Orthophenylènediamine

**PBS:** Phosphate Buffer Saline

**PBS-T:** Phosphate Buffer Saline-Tween

**PCR :** Polymerase Chain Reaction

**TDM:** Tomodensitométrie

**µm:** Micromètre

## GLOSSAIRES

---

**Antigène:** Toute substance étrangère à l'organisme capable de déclencher une réponse immunitaire visant à l'éliminer.

**Biopsie :** c'est le prélèvement chirurgical d'un fragment de tissu ou d'organe vivants pour un examen microscopique.

**Cestodose:** maladie causée par les cestodes.

**Cœnures :** taenia de l'intestin du chien.

**Coprophage :** c'est un organisme qui se nourrit d'excréments.

**Epilepsie:** c'est une maladie caractérisée par des crises convulsives.

**Hôte définitif:** être vivant, vertébré ou invertébré, dans l'organisme duquel vit un parasite à l'état adulte, mature sexuellement.

**Hôte intermédiaire:** être vivant, vertébré ou invertébré, dans l'organisme duquel un parasite se développe à l'état larvaire ou dans une phase d'immaturité sexuelle.

**Hydrocéphalie:** c'est une anomalie neurologique sévère, définie par l'augmentation du volume des espaces contenant le liquide céphalo-rachidien (LCR).

**Kystes hydatiques :** c'est le développement chez l'homme, le plus souvent au niveau du foie, de la forme larvaire d'un taenia du chien (*Echinococcus granulosus*).

**Ladre :**qualifiant un bœuf ou un porc sous la langue ou dans les muscles duquel se sont développées des larves de ténia.

**PCR:** méthode de biologie moléculaire d'amplification d'ADN *in vitro*.

**Phytothérapie:** traitement des maladies par des plantes.

**Pléomorphe :** capacité de revêtir des formes différentes dans certaines conditions ou sous des influences déterminées.

**Tomodensitométrie:** encore appelé scanner est un examen radiographique qui utilise les rayons X en faisceau très étroit, avec leur propriété de traverser les tissus en fonction de leur densité.

## TABLE DES MATIERES

	<i>Pages</i>
<b>DEDICACES.....</b>	<b>i</b>
<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>ii</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>iv</b>
<b>GLOSSAIRES.....</b>	<b>v</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>x</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>1</b>
<b>GENERALITES SUR LA CYSTICERCOSE .....</b>	<b>3</b>
<b>I.    HISTORIQUE.....</b>	<b>3</b>
<b>II.   REPARTITION GEOGRAPHIQUE .....</b>	<b>4</b>
<b>III.  PARASITOLOGIE .....</b>	<b>5</b>
<b>III.1    Classification.....</b>	<b>5</b>
<b>III.2    Descriptions du parasite .....</b>	<b>6</b>
<b>III.3    Cycle de développement .....</b>	<b>7</b>
<b>III.4    Mode de contamination .....</b>	<b>9</b>
<b>III.5    Antigènes parasitaires .....</b>	<b>10</b>
<b>IV.   METHODES DE DIAGNOSTIC.....</b>	<b>10</b>
<b>V.    TRAITEMENT .....</b>	<b>11</b>
<b>VI.   IMMUNITE ET CYSTICERCOSE.....</b>	<b>12</b>
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>14</b>
<b>I.    POPULATION .....</b>	<b>14</b>
<b>II.   CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS UTILISES.....</b>	<b>14</b>
<b>II.1 Les sérums .....</b>	<b>14</b>
<b>II.2 Les LCR.....</b>	<b>14</b>
<b>II.3 Les échantillons d'étude .....</b>	<b>15</b>

II.4 Les témoins .....	15
III. L'ANTIGENE .....	15
IV. LE TEST ELISA .....	16
IV.1 Description du test .....	16
IV.2 Principe du test ELISA .....	16
IV.3 Mise au point du test ELISA.....	18
IV.3.1 ELISA totaux.....	19
IV.3.2 ELISA spécifique.....	20
IV.3.2.1 Recherche des témoins positifs.....	20
IV.3.2.2Standardisation de la technique ELISA .....	20
IV.4 Etude des différentes classes : IgE, IgA, IgD.....	22
IV.4.1 Mesure de la performance du test ELISA .....	22
IV.4.1.1 Choix d'un seuil de positivité .....	22
IV.4.1.2 Sensibilité (Se).....	23
IV.4.1.3 Spécificité (Spe).....	23
IV.4.2 Mesures de la performance d'une stratégie diagnostique.....	24
IV.4.2.1 Valeur prédictive du résultat positif (VPP) .....	24
IV.4.2.2 Valeur prédictive du résultat négatif (VPN).....	25
RESULTATS .....	26
I. MISE AU POINT DES TESTS ELISA .....	26
I.1 Tampon de saturation employé dans les tests ELISA .....	26
I.2 Dilutions des conjugués.....	26
I.3 Dilution des échantillons appropriés .....	27
I.3.1 IgE .....	28
I.3.2 IgA .....	30
I.3.3 IgD .....	32
I.4 Recherche des témoins positifs .....	37

<b>II. RESULTATS DE L'ETUDE DES CLASSES D'Ig.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1 Performance du test ELISA.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.1 Seuil de positivité.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1.2 Sensibilité et spécificité.....</b>	<b>40</b>
<b>II.2 Performance d'une stratégie diagnostique.....</b>	<b>42</b>
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>43</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>47</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>48</b>
<b>ANNEXES</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
<b>RESUME</b>	

## LISTE DES FIGURES

	<i>Pages</i>
Figure 1: Distribution mondiale de la cysticercose.....	5
Figure 2: Adulte, oeuf, larve du <i>Taenia solium</i> . ....	7
Figure 3: Cycle du développement du <i>Taenia solium</i> . ....	8
Figure 4: Description schématique du test ELISA. ....	17
Figure 5: Organisation de la plaque de microtitration en ELISA totaux. ....	19
Figure 6: Courbe de linéarité.....	28
Figure 7: Courbe de variation des sérums avec IgE. ....	29
Figure 8: Courbe de variation des LCR avec IgE.....	30
Figure 9: Courbe de variation des dilutions des sérums pour IgA.....	31
Figure 10: Courbe de linéarité des IgA pour LCR. ....	32
Figure 11: Courbe de variation des dilutions des sérums avec IgD. ....	33
Figure 12: Courbe de variation des dilutions des LCR pour IgD. ....	34

## LISTE DES TABLEAUX

	<i>Pages</i>
Tableau 1: Déroulement de l'ELISA totaux. ....	20
Tableau 2: Protocoles testés lors de la mise au point de la technique ELISA spécifiques pour les sérums. ....	21
Tableau 3: Tests réalisés dans la mise au point de protocole ELISA spécifique pour le LCR.....	22
Tableau 4: Evaluation de la sensibilité du test.....	23
Tableau 5: Evaluation de la spécificité du test.....	24
Tableau 6: Valeurs des DO des échantillons de sérum avec les trois tampons testés. ....	26
Tableau 7: Tableau des valeurs des DO pour les dilutions des conjugués. ....	27
Tableau 8: Dilutions adéquates des conjugués.....	27
Tableau 9: Valeurs de DO des sérums IgE à différentes dilutions.....	28
Tableau 10: Valeurs de DO des LCR IgE à différentes dilutions. ....	29
Tableau 11: Valeurs de DO des sérums IgA à différentes dilutions.....	30
Tableau 12: Valeurs de DO des LCR IgA à différentes dilutions. ....	31
Tableau 13: Valeurs de DO des sérums IgD à différentes dilutions.....	32
Tableau 14: Valeurs de DO des LCR IgD à différentes dilutions. ....	33
Tableau 15: Dilutions adaptées aux échantillons. ....	34
Tableau 16: Protocole ELISA IgE.....	35
Tableau 17: Protocole ELISA IgA.....	36
Tableau 18: Protocole ELISA IgD.....	37
Tableau 19: Valeurs des DO des témoins positifs. ....	37
Tableau 20: Seuil de positivité des Ig. ....	38
Tableau 21: Tableau de contingence. ....	40
Tableau 22: Sensibilité et spécificité, valeurs prédictives des résultats positifs et négatifs. .....	41

# INTRODUCTION



## INTRODUCTION

La "cysticercose" est un problème de santé publique due à l'apparition de stade kystique (larves) de parasites taenias chez les humains et les animaux domestiques. Elle est due au cysticerque (*Cysticercus cellulosae*) du taenia de l'homme, *Taenia solium* (Donald et al., 1998).

La cysticercose est une affection relativement fréquente à Madagascar.

Généralement bien connue dans tout le pays, favorisé par le manque d'hygiène, la maladie sévit pratiquement dans toute l'île et constitue un véritable problème de santé publique (Razafindrahaja, 2007).

Des études récentes, menées par l'équipe de l'Institut Pasteur de Madagascar dans seulement trois provinces : Antananarivo, Fianarantsoa et Mahajanga, ont montré que, respectivement, selon les résultats des tests immunologiques, les prévalences sont de 44%, 30% et 22%. Alors qu'en 1993, une enquête séroépidémiologique, réalisée dans les six provinces du pays, n'a mis en évidence qu'une prévalence égale à 8% à 23% (Andriantsimahavandy, 2003).

La cysticercose se contracte lors de l'ingestion d'œufs de ver solitaire (*Taenia solium*) contaminant les aliments ou par autoinfestation par les mains sales (Andriantsimahavandy, 2003). L'homme est le seul hôte définitif qui héberge le ténia adulte. L'homme et le porc sont également les hôtes intermédiaires des cysticerques (Sciutto et al., 2007). Les tissus sous-cutanés, le cerveau et les muscles squelettiques sont les plus fréquemment touchés (Dilip et al., 2011).

Les manifestations cliniques sont pléomorphes en fonction du nombre, du stade des cysticerques, de la localisation des parasites (Bronstein et al., 2005 ; Patel, 2006). Les symptômes les plus fréquents sont les maux de tête, l'augmentation de la pression intracrânienne et l'hydrocéphalie (Willingham et al., 2006). L'impact de la cysticercose sur la santé humaine est difficile à estimer, en raison de la grande variabilité du tableau clinique de la maladie, allant d'asymptomatique à des graves maux de tête, d'épilepsie et même la mort (Zoli et al., 2003).

Le critère de diagnostic de la cysticercose doit être fondé sur la présentation clinique (Willingham, 2006).

Le traitement symptomatique est destiné à contrôler les manifestations cliniques, en particulier les crises ou l'hypertension intracrânienne (Garcia, 2010).

L'albendazole et le praziquantel sont toujours les médicaments les plus couramment utilisés capables de détruire la plupart des parasites intracrânienne (Choix et al., 2010).

Chez l'homme, la tomodensitométrie (TDM) ou scanner, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) sont utilisés pour la détection des cysticerques. Cependant, dans les pays sous-développés, l'accès aux équipements d'imagerie n'est pas à la portée des sujets en zones d'endémie. Des diagnostics sérologiques « Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay » (ELISA) et « Enzyme-Linked Immuno(electro) Transfer Blot » (EITB) sont maintenant disponibles pour la neurocysticercose humaine.

Différents antigènes de cysticerque, allant des antigènes bruts aux antigènes purifiés sont utilisés pour la détection d'anticorps dans les tests sérologiques (Tchamdja, 2007).

La cysticercose implique une relation complexe hôte-parasite dans laquelle la participation de la réponse du système immunitaire peut être décisive (Flisser et al., 1979).

La détermination de la classe d'immunoglobuline (Ig) à laquelle appartiennent les anticorps intervenant dans l'immunisation passive serait une étape importante pour la compréhension globale de l'immunité contre les cestodes larvaires (Abdulssalam et al., 2010).

Comme le diagnostic sérologique de la cysticercose existant à Madagascar est seulement basé sur la détection des IgG, nous envisageons à réaliser des tests biologiques qui visent à doser les différents isotypes (IgE, IgA, IgD) humains.

Ainsi, dans le but de mettre en place un diagnostic épidémiologique de la cysticercose humaine, notre choix a porté sur un test ELISA pour la détection d'anticorps (Ab-ELISA) à base d'antigènes de cysticerques.

L'objectif du présent travail repose sur la mise au point du test de détection d'anticorps par la technique ELISA et la comparaison des résultats des échantillons (sérums et liquide céphalo-rachidien ou LCR) obtenus pour les classes d'Ig étudiées avec le test de référence (imagerie scanner).

Ce travail comporte quatre parties dont la première partie est consacrée aux généralités sur la cysticercose, la seconde partie décrit la méthodologie. La troisième rapporte les résultats ainsi que les interprétations. La dernière partie est réservée à la discussion suivie de la conclusion et les perspectives.

**GENERALITES**  
**SUR LA**  
**CYSTICERCOSE**

## GENERALITES SUR LA CYSTICERCOSE

### I. HISTORIQUE

La ladrerie porcine ou cysticerose du porc est connue depuis la plus haute Antiquité. ARISTOPHANE en parle dans la comédie des «Chevalier » (Raveloson, 1978).

Si la maladie était connue, sa nature parasitaire reste ignorée des anciens et des auteurs du moyen âge. Ce n'est qu'en 1842 que STEENSTRUP considéra les cysticerques comme des formes d'évolution d'helminthes qui lui restent inconnus (Raveloson, 1978).

La cysticerose chez l'Homme n'a été connue que vers la seconde moitié du XVI<sup>e</sup> siècle et c'est l'alchimiste et médecin suisse Bombastus von Hohenheim qui a établi le rapport entre ladrerie porcine et cysticerose humaine (Andrianantenaina, 2003).

Von SIEBOLD et DUJARDIN les rapportent à des taenias aberrants. De 1845 à 1855, HÜMBERT, KUCHENMEISTER, LEUCKART, HOLLENBACH, HALLER, prouvèrent que *Cysticercus cellulosae* et *Taenia solium* ne sont que deux formes évolutives d'un même ver (Raveloson, 1978).

Le cycle parasitaire est établi entre 1850 et 1860 par VAN BENEDEN, DUJARDIN, VON GRAEFE, SIEBOL, LEUCKART et KUCHENMEISTER. Ce dernier démontre que le cysticerque était la forme larvaire du *Taenia solium* en faisant absorber à un condamné 75 cysticerques, qui furent retrouvés par la suite sous la forme de jeunes taenias (Rakotondrazaka, 1997).

Bien connue des Malgaches, la ladrerie du porc ou Voavary a été signalée en 1901 par GRAND MOUGIN tandis que L. MONNIER et ANDRIANJAFY d'une part, et ANDRIANJAFY d'autre part publiaient dès 1910 les premiers cas humains de cysticerose, avec autopsie et étude microscopique à l'appui (Andriantsimahavandy, 1996).

En 1942, NIETO tente de résoudre le problème de diagnostic de la maladie au moyen d'une réaction de fixation du complément dans le liquide céphalorachidien.

La technique d'imagerie médicale est couramment utilisée : la tomodensitométrie (TDM) ou scanner depuis 1978 et l'imagerie par résonance magnétique (IRM) depuis 1986. DIWAN et COKER-VANN adaptent la technique ELISA au diagnostic de la cysticerose (Andriantsimahavandy, 1996).

Au plan thérapeutique, la première tentative chirurgicale a lieu en 1901 par KRAMER. STIEPEN établit en 1949 le bilan d'une série de 49 cas de neurocysticercose opérée. Puis avec l'avènement du praziquantel, utilisé depuis 1980 dans la cysticercose humaine, la thérapeutique jusqu'alors bien que décavante, franchit une étape importante (Andriantsimahavandy, 1996).

## **II. REPARTITION GEOGRAPHIQUE**

Elle est cosmopolite sauf dans les pays de religion juive ou musulmane (interdiction de la consommation de viande de porc). La cysticercose sévit en particulier dans les zones où la misère, les conditions d'hygiène précaires et la promiscuité favorisent le péril fécal et l'autocontamination (Brostein, 2005).

Bien que la cysticercose soit l'une des cestodoses les plus importantes dans le monde entier, elle est endémique principalement dans les régions éloignées ou rurales des pays en développement où les populations locales consomment de la viande de porc non contrôlée (Yanagida, 2012).

Environ 50 millions de personnes sont infectées d'après l'échelle mondiale (Sorvillo et al., 2011). La cysticercose est rencontrée en Amérique Latine, dans une grande partie de l'Asie (surtout l'Inde, la Chine et le Sud-Est asiatique), en Afrique sub-saharienne, et dans certaines contrées de l'Océanie. Dans les zones rurales de ces pays, la combinaison d'un climat chaud, de la pauvreté et de l'illettrisme constituent un contexte favorable pour la transmission de la maladie (Burkhardt, 2010).

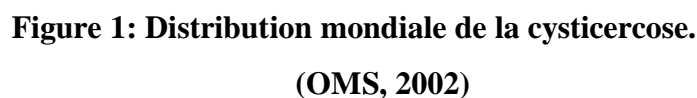
Par ailleurs, le nombre de cas de cysticercose chez les personnes ayant voyagé dans les pays d'endémie est de plus en plus élevé. Aux Etats-Unis, au cours des dernières décennies, la neurocysticercose est devenue un important problème de santé publique à cause de l'afflux croissant d'émigrés, en particulier en provenance du Mexique. Enfin, l'emploi répandu de personnel de maison provenant des régions d'endémie est un facteur majeur de transmission à des personnes n'ayant jamais voyagé ou ne consommant pas de viande de porc (Rakotoson et al., 2008).

A Madagascar, où le premier cas humain, confirmé par autopsie, a été rapporté en 1910, la cysticercose est un problème de santé publique.

Madagascar est un pays à forte prévalence de cysticercose, mais les différentes régions sont atteintes de façon hétérogène (Rakotoson et al., 2008). La prévalence active de la

La cysticercose peut toucher les sujets à tout âge y compris les nourrissons et les deux sexes. Elle est présente tant en milieu urbain qu'en milieu rural.

La figure 1 montre la distribution mondiale de la cysticercose selon OMS en 2002.



### III.1 Classification

5

par des parasites dont les crochets ont trois éléments constitutifs : le manche, la lame et la garde (Rajaofetra, 2003).

### III.2 Descriptions du parasite

*Taenia solium*, encore appelés *Taenia curbitana pallas*, souvent improprement appelés vers solitaires, sont des Plathelminthes endoparasites de l'intestin de l'homme, dépourvus de système digestif à tous les stades de leur développement. Leur corps, en général aplati, rubané, présente un organe de fixation, le scolex, en arrière duquel une zone de croissance produit de façon continue des segments ou proglottis, formant ainsi une chaîne, le strobile.

Chaque segment renferme un appareil reproducteur hermaphrodite dont la maturation se fait progressivement le long du strobile, d'avant en arrière (Baer, *universalis*).

Les œufs de *Taenia solium* ou plus précisément les embryophores ont une forme arrondie et mesurent 50 à 60  $\mu$  de diamètre. L'œuf est composé d'un embryon entouré par une coque chitineuse (oncosphère). L'embryon présente à sa surface 6 petits crochets lui donnant le nom d'embryon hexacanthé.

Avant l'élucidation de la relation existant entre les taenias et leurs cysticerques, les stades larvaires étaient désignés par leur propre nom scientifique comme s'ils étaient des espèces à part entière. Ainsi, la larve de *Taenia solium* était dénommée *Cysticercus cellulosae* (Acha et al., 2005).

La forme larvaire de *Taenia solium* ou *Cysticercus cellulosae* est une larve vésiculeuse, translucide, mesurant 5 à 10 mm de large et 6 à 20 mm de long. Elle est généralement ovoïde mais sa forme dépendra de pressions exercées par les tissus dans lesquels elle est localisée :

- Dans les muscles exerçant des pressions latérales, les cysticerques sont allongés,
- Dans les tissus sous-cutanés, ils sont lenticulaires,
- Dans le corps vitré et les ventricules cérébraux, du fait que les pressions s'exercent d'une façon égale en tout sens, ils sont sphériques,

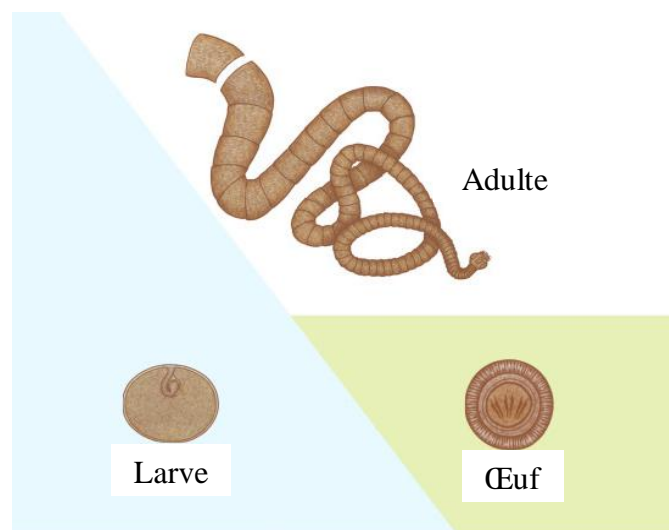
Certains cysticerques ont une forme très irrégulière avec des prolongements ramifiés et peuvent être plus volumineux: ils sont dénommés *Cysticercus racemosus* par ZENKER ou *Cysticercus multilocularis* par KUCHENMESTER (Rajaofetra, 2003).

Il existe ainsi deux types de cysticerques :

- ✓ La forme celluleuse, *Cysticercus cellulosae*, qui est la plus fréquemment rencontrée et constitue la forme commune
- ✓ La forme racémeuse de ZENKER, *Cysticercus racemosus*, une forme non limitée, diffuse, ne contenant pas de scolex, donnant des aspects en grappes de raisin et se localisant préférentiellement dans les espaces sous-arachnoïdiens.

Lors de l'inspection anatomique, les cysticerques hébergés par leur hôtes (homme et porc) se trouvent dans différents états morphologiques, certains sont clairement kystique avec des structures intactes (vésiculaire) tandis que d'autres semblent coagulé (colloïdale) ou ils peuvent être nécrotiques et parfois partiellement ou totalement calcifiée.

Les différents stades du parasite sont présentés par la figure ci-dessous.



**Figure 2: Adulte, œuf, larve du *Taenia solium*.**

### **III.3 Cycle de développement**

Le parasite nécessite 2 hôtes durant son cycle de vie.

Le cycle évolutif commence par l'élimination et la dispersion dans l'environnement, avec les fèces de l'hôte définitif (atteint de la taeniasse), d'œufs du *Taenia solium*. Ce sont en fait des embryophores immédiatement contaminants. Lorsque cet «œuf» est avalé et parvient dans le tube digestif de l'hôte intermédiaire, l'embryon est libéré.



Généralement, le porc, un animal coprophage est l'hôte intermédiaire du *Taenia solium* ; Cependant, les humains peuvent également être infectés quand ils ingèrent les œufs du taenia (contaminants l'eau et les aliments ou par les mains sales contaminés).

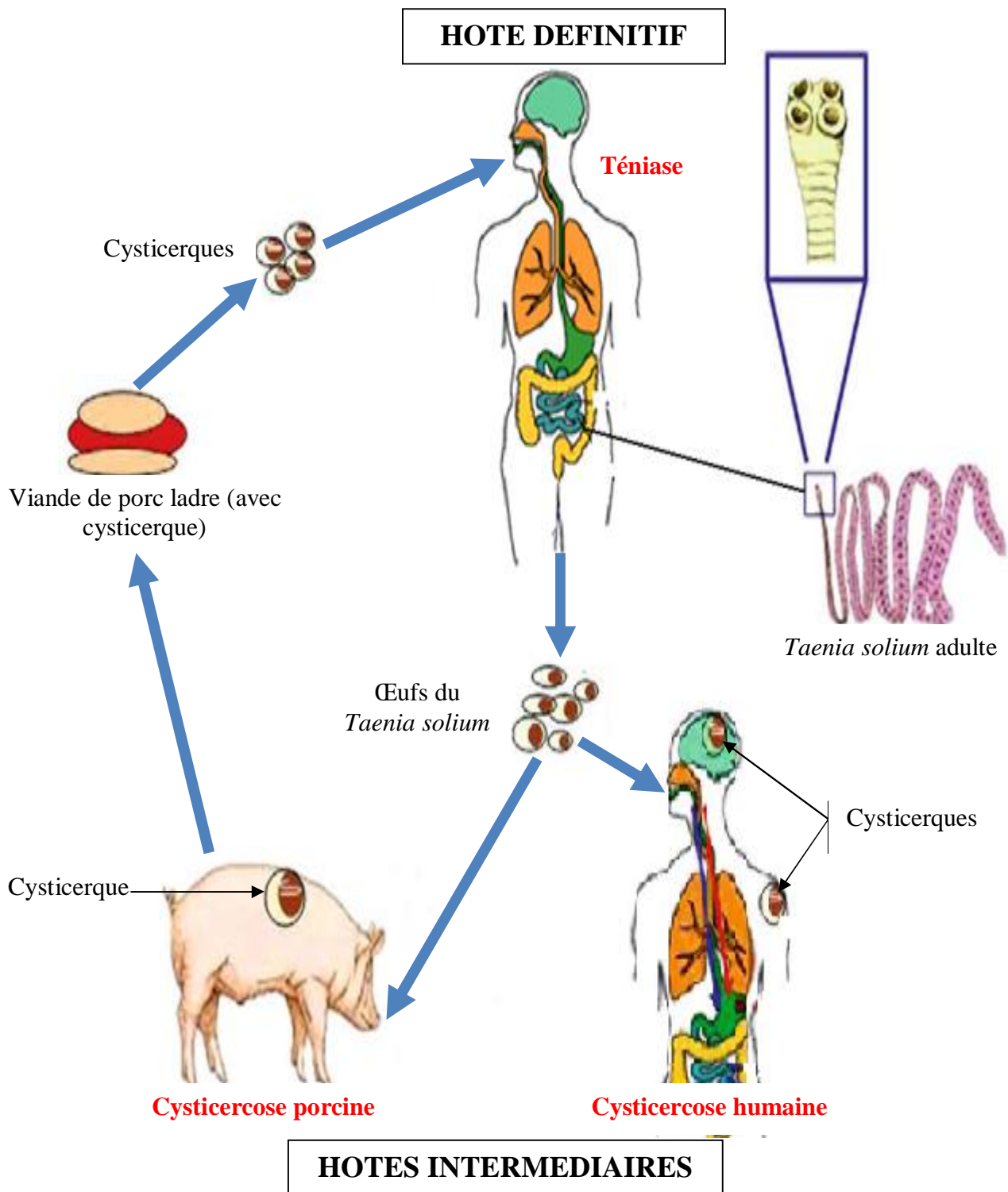


Figure 3: Cycle de développement de *Taenia solium*.

(Prasad et al., 2008)

L'embryon traverse ensuite la paroi du tube digestif de l'hôte intermédiaire et passe dans le sang qui peut le véhiculer dans tout l'organisme. Généralement il s'arrête dans le tissu conjonctif, où il se transforme en cysticerque. Cet hôte aurait alors la cysticercose.

Les cysticerques se développent dans les muscles du porc (ladrerie porcine), mais ils peuvent se développer dans tous les organes et surtout dans le tissu sous cutané, le cerveau (neurocysticercose ou NCC) et les yeux (cysticercose oculaire) pour l'hôte humain.

Lorsque l'homme mange de la viande du porc ladre crue ou mal cuite, le cysticerque, libéré au cours de la digestion, se fixe à la paroi intestinale et croît très rapidement pour devenir un ténia adulte qui commence à pondre après quelques semaines (Golvan, *universalis*).

La cysticercose est donc une maladie transmissible par voie oro-fécale acquise par l'ingestion d'œufs excrétés dans les matières fécales d'un être humain porteur du ténia (Aubry, 2009).

#### **III.4 Mode de contamination**

L'homme hébergeant *Taenia solium* est la seule source de contamination par défécation autour des habitations (*Université Médicale Virtuelle Francophone*, 2008).

Il y a trois modes de contamination de la cysticercose :

- ✓ contamination par ingestion d'aliments ou d'eaux contaminées (péril fécal) par des œufs de *Taenia solium* disséminés dans la nature par un autre humain porteur du ver adulte,
- ✓ contamination au contact d'un porteur et ingestion d'œufs (péril fécal, mains sales), la présence de porteurs de *Taenia solium* adulte dans l'entourage est un facteur de risque important,
- ✓ contamination par auto-infestation à partir des œufs embryonnés produits par le *Taenia solium* hébergé par le sujet lui-même. Cela peut survenir par souillure fécale (mains sales), mais aussi par digestion d'anneaux remontant de l'intestin grêle dans l'estomac suite à des mouvements intestinaux antipéristaltiques. Dans ce cas, la taeniose précède la cysticercose et la contamination initiale est due à la consommation de viande de porc ladre (Aubry, 2009).

En outre, l'immigration des domestiques à l'étranger, les voyages internationaux, la commercialisation et le transport des porcs ont propagé la maladie à des zones non endémiques (Flisser et al., 2006).

### **III.5 Antigènes parasitaires**

Peu d'antigènes de cysticerque ont été identifiés:

- ✓ les antigènes bruts, obtenus après homogénéisation de cysticerques.
- ✓ l'antigène immunodominant du cysticerque B (95-105 kDa).
- ✓ deux antigènes de faible poids moléculaires (26 kDa et 8 kDa) qui donnent une bonne sensibilité au diagnostic.
- ✓ des antigènes glycoprotéiques (13-50 kDa) utilisés dans la technique de western blot et sensibles dans le diagnostic de la cysticercose humaine. (Donald, 1998).

## **IV. METHODES DE DIAGNOSTIC**

Dans la majorité des cas, les parasites adultes n'entraînent qu'un gêne relativement minime, ainsi l'infection peut passer inaperçue pendant de longues périodes.

La méthode de diagnostic la plus fiable pour la cysticercose humaine est la biopsie des cysticerques musculaires (Abdulssalam et al., 1976).

L'examen de choix dans les formes extra-neuronales de cysticercose est l'examen anatomopathologique des biopsies de nodule sous-cutané ou intramusculaire. Il met en évidence une vésicule contenant un liquide et un scolex unique invaginé porteur d'une double couronne de crochets caractéristiques. Cette vésicule, de la taille d'un grain de riz, est contenue dans une enveloppe kystique de structure. L'examen anatomo-pathologique est le seul examen permettant un diagnostic de certitude pour l'identification du cysticerque.

Pour le cas de la cysticercose cérébrale, les jeunes cysticerques sont transparents aux rayons X mais ils deviennent visibles lorsqu'ils se calcifient. On peut, de même, distinguer les cysticerques racemeux du cerveau, des cœnures et des kystes hydatiques (Abdulssalam et al., 1976).

La technologie d'imagerie permet de mettre en évidence les cysticerques viables dans les cerveaux de personnes infectées (Schantz, 2006).

La radiographie peut être un outil simple et utile, car elle permet de détecter les domaines d'intervention de la calcification due à la dégénérescence kystique suivie par l'inflammation et la cicatrisation focale (Dilip et al., 2011).

Les techniques sérologiques consistent à rechercher des anticorps dirigés contre *Cysticercus cellulosae* ou des antigènes circulants du cysticerque dans le sérum et dans le LCR. Parmi les tests immunologiques, on peut citer l'Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) et l'Enzyme Linked Immuno-électrotransfert Blot assay (EITB). L'EITB a pour but de détecter les bandes de glycoprotéines spécifiques du cysticerque. Cette technique est très sensible chez les patients présentant des lésions multiples, mais est moins sensible chez les patients avec des lésions uniques ou calcifiées. La technique ELISA bien que de sensibilité et de spécificité plus faibles que celles de l'EITB, est la plus utilisée car elle est simple, pratique et de faible coût. (Aubry, 2009).

La «Polymerase Chain Reaction» ou PCR est une technique de répllication ciblée *in vitro*. Elle détecte la présence d'ADN des cysticerques dans les sérums et dans les LCR des personnes atteints de la neurocysticercose. La PCR est très utile dans le cas où les techniques d'imageries ne sont pas disponibles. Dans le cas de NCC, il est intéressant de travailler avec les LCR car les sérums contiennent une grande quantité des protéines et d'ADN qui peuvent limiter la spécificité de la PCR (Bouteille et al., 2011).

## **V. TRAITEMENT**

Le traitement de la cysticercose est basé sur les symptômes et la localisation du parasite. Il peut être chirurgical ou médical.

Chez les patients atteints d'hydrocéphalie ou d'hypertension intracrânienne, la priorité est de gérer le problème l'hypertension avant d'envisager toute autre forme de thérapie.

La plupart des patients atteints de la neurocysticercose présentent une épilepsie et l'administration de médicaments antiépileptiques, tels que la phénytoïne ou la carbamazépine, atténue les crises (Takayanagui et al., 2006).

Le traitement antiparasitaire consiste en l'utilisation du praziquantel, albendazole (ABZ), ou les deux. Le praziquantel, provoque la perte de calcium intracellulaire et entraîne une contraction et une paralysie du parasite. L'ABZ semble être plus efficace contre le kyste parasitaire (Morales et al., 2000).

Une phytothérapie appliquée à la cysticercose consiste en l'utilisation du "RAVITOTO" ou feuilles de manioc *Manihot utilissima* pilées qui est un produit local et à un coût très abordable (Andrianantenaina, 2003).

Le taux d'amélioration par le traitement ABZ associé avec le RAVITOTO est largement supérieur par rapport au taux d'amélioration par le traitement ABZ seul. Deux raisons expliqueraient ce phénomène observé :

- Dans la littérature, l'ABZ est un anti-cestode donc il lutte déjà contre l'infestation (ou infection). Et de plus, son pouvoir anti-infectieux s'associe à celui du Ravitoto qui est aussi anti-infectieux (Andrianantenaina, 2003).
- Les réactions inflammatoires des tissus au niveau des tissus sont jugulées à la fois par les corticoïdes ou l'alpha-amylase de l'ABZ et par le Ravitoto qui est connu comme ayant un pouvoir anti-inflammatoire (Andrianantenaina, 2003).

## **VI. IMMUNITE ET CYSTICERCOSE**

Les infections parasitaires stimulent divers mécanismes de défense relevant à la fois des immunités humorale et cellulaire, et les réponses les plus efficaces dépendent de la nature du parasite et du stade d'infection.

La réponse immunitaire est un processus complexe résultant de l'activation des défenses immunitaires innées et adaptatives.

D'une façon générale, les réponses humorales sont nécessaires pour éliminer les parasites extracellulaires. Les anticorps, seuls ou associés au complément, peuvent affecter certains parasites extracellulaires, mais ils agissent plus efficacement en association avec des cellules effectrices (Male et al., 2007).

Le système immunitaire humain reconnaît généralement et réagit contre le parasite.

Dans le cas de la neurocysticercose (NCC), des niveaux d'anticorps détectables contre les antigènes du parasite se trouvent, à quantité variable et à différentes spécificités, dans le sérum et dans le LCR. Les antigènes libres, sécrétés par le parasite, peuvent également être identifiés dans ces liquides biologiques.

Certains résultats mettent en évidence un dysfonctionnement de la réponse immunitaire cellulaire dans la NCC, comme l'inhibition de la prolifération des lymphocytes et des concentrations anormales de cytokines (Rolfs et al., 1995).

Toutefois, compte tenu de l'hétérogénéité clinique de la NCC, la réponse immunitaire de l'hôte dépend également de la viabilité du parasite et de sa localisation anatomique. Dans cet égard, les personnes atteintes de la NCC asymptomatiques, qui vivaient dans une zone fortement endémique de la maladie, ont une prolifération accrue de cellules T spécifiques et avec dominance Th2 (Chavarria et al., 2005).

Pour les patients dont les parasites sont situés dans l'espace sous arachnoïde et dans les systèmes ventriculaires, la sévérité clinique était liée à une inflammation accrue et élévation de niveau d'IgG, des IL6, IL5, IL10, et des éosinophiles dans le LCR (Chavarria et al., 2005).

Dans les zones fortement endémiques, la majorité des sujets atteints de la NCC sont asymptomatiques avec un taux plus élevé d'anticorps spécifiques (IgG1, IgG2, IgG4, IgE) et une prolifération accrue des cellules spécifiques par rapport à des gens provenant de zones de faible endémicité (Chavarria, 2006). Ces résultats montrent que les sujets vivant dans des zones de forte endémicité sont protégées naturellement contre les formes graves de la cysticercose.

**MATERIELS**  
**ET**  
**METHODES**

## **MATERIELS ET METHODES**

### **I. POPULATION**

Les patients présentant les symptômes de la neurocysticercose (céphalées, crises convulsives), en consultation ou hospitalisés au sein du service de neurologie de l'hôpital Raseta Befelatanana, ont été inclus dans cette étude. Les sujets ont été eu un examen scanographique cérébral et leurs sérums et LCR ont été par la suite testés par techniques ELISA-IgG et EITB-IgG à l'Unité Immunologie de l'Institut Pasteur de Madagascar.

### **II. CARACTERISTIQUES DES ECHANTILLONS UTILISES**

#### **II.1 Les sérums**

Le sérum est le liquide sanguin débarrassé de ses cellules et des protéines de la coagulation. Il est principalement constitué d'eau, contient des substances dissoutes, qui sont essentiellement des protéines sériques et globuline (anticorps, albumines ...) et divers ions (ions sodium, chlorure...).

Du sang veineux prélevé au pli du coude récolté dans un tube sec a été centrifugé à 4000 tours/min pendant 10 à 15 min. Il est ensuite aliquoté et conservé au congélateur à -20°C jusqu'à leur utilisation.

#### **II.2 Les LCR**

Le liquide céphalo-rachidien, encore appelé LCR est un liquide biologique qui entoure tout le système nerveux central et qui remplit en plus les cavités ventriculaires de l'encéphale autrement dit cérébraux. Le LCR est un liquide clair, contient des protéines, glucose, des sels sous formes de chlorure surtout, des enzymes, des neuromédiateurs. Il contient également des immunoglobulines (Ig) qui représentent 7 à 13% des protéines totales.

Le prélèvement de liquide céphalo-rachidien se fait, lors d'une ponction lombaire effectuée dans le bas du dos, entre la 4<sup>ème</sup> et la 5<sup>ème</sup> vertèbre lombaire et permet d'analyser et de déceler les traces d'une infection ou d'une maladie (<http://www.neuro-club.info/neuro-lcr.htm>).

Ainsi, le taux d'Ig présent dans le sérum et dans le LCR ont été dosés par la technique ELISA.



### **II.3 Les échantillons d'étude**

Huit sérums et quatre LCR de patients atteints de la cysticercose diagnostiqués par scanner cérébral, et par ELISA-IgG et Western Blot-IgG (EITB), ont été utilisés pour la mise au point des différentes classes d'Ig (IgE, IgA, IgD).

Après la mise au point, 80 couples de sérum-LCR ont été utilisés pour l'étude des différentes classes d'Ig.

### **II.4 Les témoins**

Les sérums et LCR négatifs et positifs utilisés dans cette étude servent à quantifier et à vérifier les performances de la technique ELISA.

#### **Les témoins négatifs**

Ce sont des sérums et des LCR de sujets totalement exemptes de cysticercose (et notamment expatriés).

#### **Les témoins positifs**

Ce sont des sérums et des LCR positifs en IgG anti-cysticerque par la technique ELISA, puis testés et analysés pour chaque classe d'Ig (IgE, IgA et IgD). Cette positivité en IgG ne présageant pas de la présence des autres isotypes, ceux qui présentent des valeurs de la densité optique (DO) supérieure ou égale à 1,00 pour les isotypes considérés servent de témoins positifs. Les témoins positifs pour les différents isotypes d'anticorps ne sont donc pas les mêmes.

### **III. L'ANTIGENE**

L'antigène (Ag) est obtenu à partir de cysticerques et a été préparé par l'Unité Immunologie de l'Institut Pasteur de Madagascar (IPM) selon une technique proche de celle de DIVAN, de MICHAULT et de TSANG en 1989 (Rakotondrazaka, 1997).

D'après la technique, deux types d'Ag pourraient être obtenus :

- ❖ les Ag bruts (Antigènes S1) correspondant à des fractions solubles obtenues après homogénéisation de cysticerques.
- ❖ l'Ag glycoprotéique (CS-50), purifié à partir des précédents par chromatographie sur une colonne de lectine.

L'antigène CS-50 est l'antigène de référence actuellement utilisé partout pour le diagnostic immunologique de la cysticercose. Par conséquent, nous avons utilisé cet Ag CS-50 pour le test ELISA.

## **IV. LE TEST ELISA**

C'est une technique immunoenzymatique permettant la détection des anticorps contre les cysticerques.

### **IV.1 Description du test**

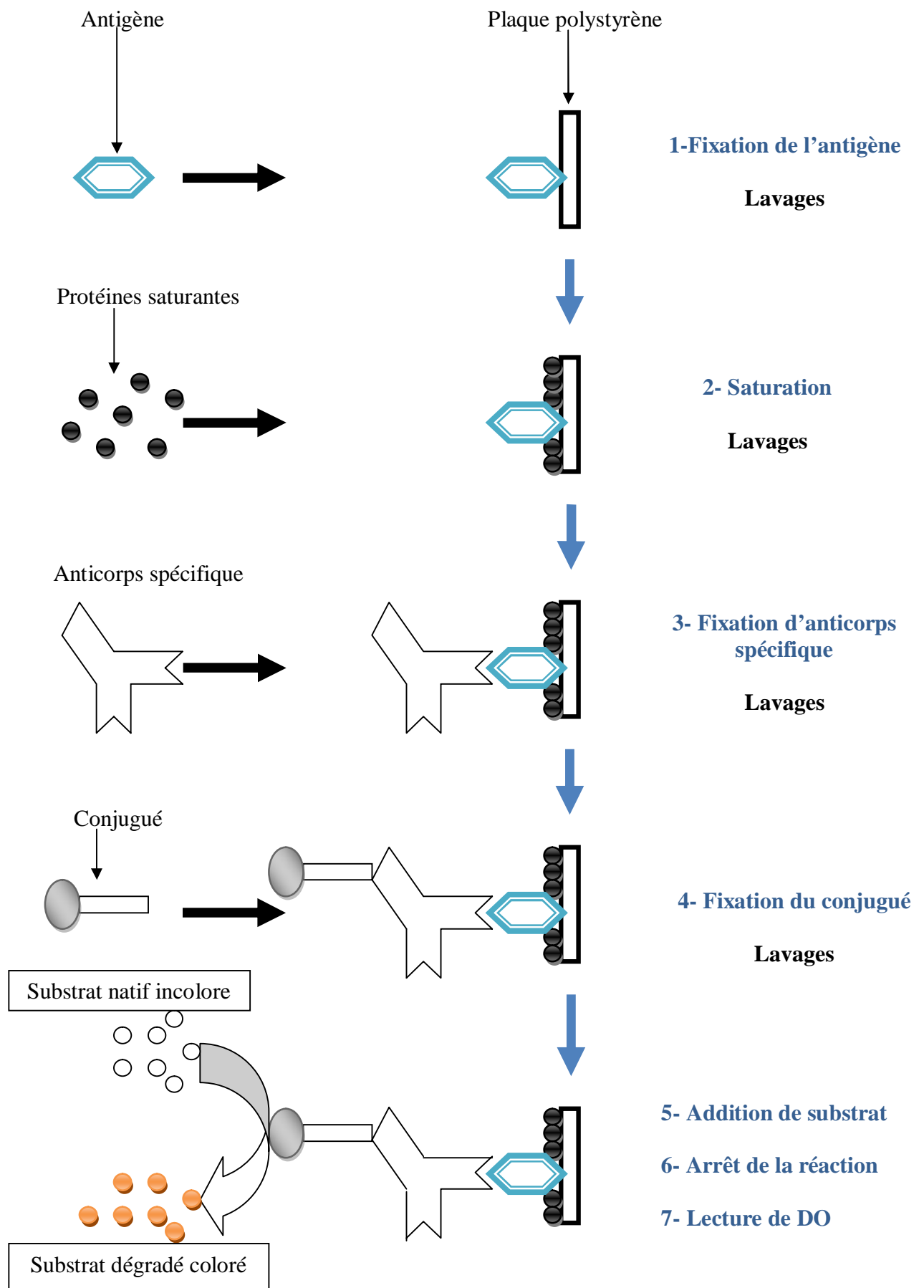
Le test ELISA « Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay » est un test immunologique destiné à détecter et à doser les antigènes ou les anticorps dans un liquide biologique, grâce à l'utilisation d'un marqueur, deuxième anticorps couplé à une enzyme. La réalisation d'un test ELISA se fait dans une plaque de polystyrène à fond plat contenant généralement 96 puits.

### **IV.2 Principe du test ELISA**

La technique ELISA a été décrite par Engval et Perlman en 1971 (Magniez, 2008).

Au cours de l'incubation de la solution antigénique, une partie des protéines s'adsorbe sur la paroi des plaques. Après l'addition des sérums, les anticorps se fixent sur les antigènes adsorbés qui ont suscité leur synthèse. Des immunoglobulines anti-immunoglobulines humaines marquées à une enzyme, appelées conjugués, forment des complexes antigènes-anticorps-conjugués qui sont révélés par l'addition du substrat de l'enzyme. Le substrat natif incolore génère après l'action de l'enzyme une coloration dont l'intensité, mesurée par unité de DO, est proportionnelle à la teneur en complexes antigènes-anticorps-conjugués, donc proportionnelle au taux des anticorps spécifiques.

La figure 4 montre la description schématique de la technique ELISA.



**Figure 4: Description schématique du test ELISA.**

## Matériels

- ❖ Plaque de microtitration à 96 puits Immulon 2 (DYNATECH)
- ❖ Pipette « multicanaux » finnpipette (LABSYSTEMS)
- ❖ Pipetman P10, P20, P200, P1000 (GILSON)
- ❖ Laveur de plaques Immuno Wash 12 (LABSYSTEMS)
- ❖ Lecteur de plaque Multiskan Plus (LABSYSTEMS)

## Réactifs

- ❖ PBS ou Phosphate Buffered Saline pH= 7,4
- ❖ Tween 20
- ❖ Caséine, Sérum Albumine Bovine (SAB), Régilait
- ❖ Conjugué anti-Ig(E, A, D) humaine marqué à la peroxydase
- ❖ Orthophénylènediamine (OPD), eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), eau distillée
- ❖ Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 2,5N

## Solution pour le test ELISA

- ❖ Tampons
  - Tampon de dilution de l'antigène : tampon carbonate
  - Tampon de lavage : tampons PBS pH=7,4-Tween 20 (0,1%)
  - Tampon de saturation
    - Tampon PBS pH=7,4-Tween 20 (0,05%)-caséine 1%
    - Tampon PBS pH=7,4-Tween 20 (0,05%)-SAB 3%
    - Tampon PBS pH=7,4-Tween 20 (0,05%)-régilait 5%
  - Tampon de dilution des sérums et des conjugués : tampon de saturation dilué 10 fois au tampon PBS pH=7,4-Tween 20 (0,05%)
- ❖ Solution de substrat : à préparer extemporanément et composée de :
  - Orthophénylènediamine (OPD) : 1 comprimé
  - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : 1 comprimé
  - Eau distillée (ED) : 20 ml
- ❖ Solution d'arrêt : H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,5N

### IV.3 Mise au point du test ELISA

La faisabilité du test a tout premièrement été investiguée. A cette fin, pour chaque classe d'Ig étudiée, des protocoles ont été testés et modifiés par la suite afin de mettre en place les techniques ELISA adéquates pour chaque classe d'Ig.

Pour les IgE, deux protocoles ont été utilisés comme base de travail; celui de Yan Mei Liang et celui de Jeong-Eun Kim (Yan., 2009 ; Jeong-Eum., 2011).

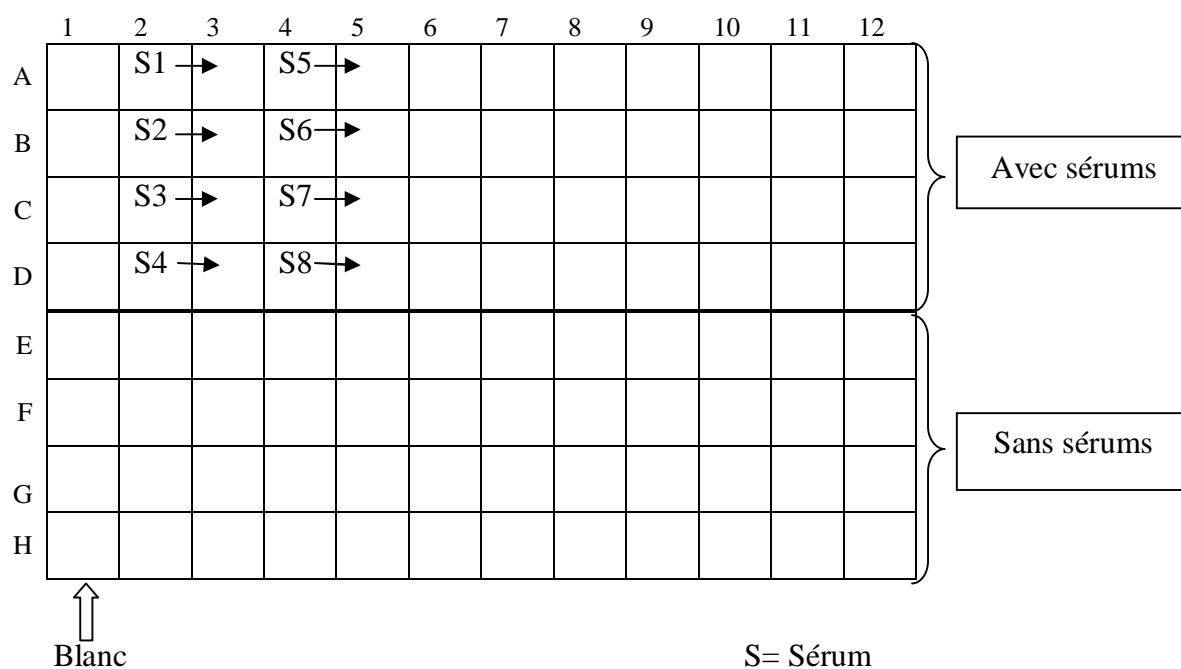
Pour les IgA, quelques modifications ont été rapportées au protocole de Fernando R. Carvalho (carvalho., 2008).

Quant aux IgD, les protocoles de Z. Peng (Peng., 1991) et de M. Zhang (Zhang., 1994) ont été utilisés comme base de travail.

### IV.3.1 ELISA totaux

La technique d'ELISA totaux vise à révéler les Ig présent dans le sérum testé. Ce test permet de définir les concentrations de conjugué nécessaire vis-à-vis d'Ig présent dans le sérum. Lors de la mise au point de la technique, les anticorps contenus dans le sérum sont fixés directement au fond de la plaque (en absence d'Ag).

Les cupules de la première colonne ont été destinées au contrôle du substrat et considérées comme blancs. La moitié inférieure de la plaque est destinée au contrôle de la moitié supérieure et donc privée de sérums. Chaque échantillon a été testé en duplicate. La plaque de microtitration est organisée selon la figure ci-dessous.



**Figure 5: Organisation de la plaque de microtitration en ELISA totaux.**

Différentes étapes ont été suivies lors de la mise au point de la technique ELISA totaux et sont résumées dans le tableau 1.

**Tableau 1: Déroulement de l'ELISA totaux.**

ETAPES	DILUTIONS	TAMPONS	CONDITION D'INCUBATION
Sérums	IgE : 1/20 IgA : 1/200 IgD : 1/200	tampon PBS (pH= 7,4)	une nuit à TA
Lavage 4 fois		tampon PBS-Tween 20 0,1%	
Saturation		tampon PBS-Tween 20 0,05% - caséine 1%	2h à TA
Lavage 4 fois		tampon PBS-Tween 20 0,1%	
Conjugué	1/500	tampon PBS-Tween 20 0,05% -caséine 0,1%	1h à TA
Lavage 5 fois		tampon PBS-Tween 20 0,1%	
Substrat		OPD, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , eau distillée	20min à TA et à l'obscurité
Arrêt de la réaction		H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 2,5N	
Lecture du DO à 492 nm			

TA= Température ambiante

### IV.3.2 ELISA spécifique

Dans cette partie, les spécificités des Ig présents dans les sérums sont testées vis-à-vis des protéines antigéniques.

#### IV.3.2.1 Recherche des témoins positifs

Les sérums testés en ELISA spécifique pour chaque classe d'Ig (IgE, IgA et IgD) et présentant une valeur de DO plus élevée ( $DO \geq 1,00$ ) servent de témoins positifs.

#### IV.3.2.2 Standardisation de la technique ELISA

La standardisation, une étape essentielle, consiste à déterminer les conditions adéquates pour la mise en place de la technique ELISA spécifique.

Les différentes conditions testées en ELISA spécifique du sérum sont résumées dans le tableau 2.

**Tableau 2: Protocoles testés lors de la mise au point de la technique ELISA spécifiques pour les sérums.**

<b>Classes Ig Conditions</b>	<b>IgE</b>	<b>IgA</b>	<b>IgD</b>
<b>Tampon de saturation</b>	<b>PBS-tween 20 0,05%-caséine 1%</b>		
	<b>PBS-tween 20 0,05%-BSA 3%</b>		
	<b>PBS-tween 20 0,05%-régilait 5%</b>		
<b>Dilutions des sérums</b>	<b>1/5</b>	<b>1/20</b>	<b>1/25</b>
	<b>1/10</b>	<b>1/40</b>	<b>1/50</b>
	<b>1/20</b>	<b>1/80</b>	<b>1/100</b>
	<b>1/40</b>	<b>1/160</b>	<b>1/200</b>
	<b>1/80</b>	<b>1/320</b>	<b>1/400</b>
<b>Dilutions des conjugués</b>	<b>1/500</b>	<b>1/500</b>	<b>1/500</b>
	<b>1/1000</b>	<b>1/1000</b>	<b>1/1000</b>

**Tableau 3: Tests réalisés dans la mise au point de protocole ELISA spécifique pour le LCR.**

<b>Classes Ig Condition</b>	<b>IgE</b>	<b>IgA</b>	<b>IgD</b>
<b>Dilutions des LCR</b>	<b>1/2</b>	<b>1/10</b>	<b>1/25</b>
	<b>1/5</b>	<b>1/20</b>	<b>1/50</b>
	<b>1/10</b>	<b>1/40</b>	<b>1/100</b>
	<b>1/20</b>	<b>1/80</b>	<b>1/200</b>
	<b>1/40</b>	<b>1/160</b>	<b>1/400</b>

#### **IV.4 Etude des différentes classes : IgE, IgA, IgD**

La performance d'un test diagnostic dépend de la spécificité et de la sensibilité de la technique par rapport à une méthode de référence qui définit les malades et les non malades. Dans ce travail le test de référence utilisé est le scanner, ce qui peut conduire à des faux positifs par mauvaise définition des sujets non malades.

##### **IV.4.1 Mesure de la performance du test ELISA**

###### **IV.4.1.1 Choix d'un seuil de positivité**

De nombreux tests sont basés sur des techniques de mesure dont les résultats s'expriment par une variable numérique continue ou par une échelle ordinale, plutôt que par une variable dichotomique. Dans ces cas, il est habituel de fixer un seuil de positivité définissant la valeur de la variable à partir de laquelle le résultat sera considéré comme positif.

Les distributions des valeurs observées chez les sujets malades et non-malades étant habituellement en partie superposables. Le seuil de positivité est choisi de façon à minimiser cette superposition. Par le calcul statistique conventionnel, la DO seuil est égale à la moyenne des DO nettes des échantillons témoins négatifs plus deux écart-types.

$$\text{DO seuil} = m\text{DO}_{\text{nég}} + 2\sigma$$

**DO seuil** : densité optique seuil

**mDO<sub>nég</sub>** : moyenne des valeurs de DO des témoins négatifs

**σ** : écart-type



Dans ce cas, la définition d'un seuil de positivité permet de décrire les quatre catégories d'individus:

- les vrais positifs (VP), malades dont le résultat du test est supérieur ou égal au seuil ;
- les vrais négatifs (VN), non-malades dont le résultat du test est inférieur au seuil ;
- les faux négatifs (FN), malades dont le résultat du test est inférieur au seuil ;
- les faux positifs (FP), non-malades dont le résultat du test est supérieur ou égal au seuil (Dabis et al., 2010).

#### IV.4.1.2 Sensibilité (Se)

Dans la plupart des situations, il est surtout intéressant de savoir si le test identifie correctement tous les patients qui ont la cysticercose.

La sensibilité est la proportion de malades identifiés parmi tous les malades. C'est le rapport du nombre de vrais positifs sur le nombre total de patients qui ont la maladie. La sensibilité est une proportion et peut donc prendre des valeurs de 0,0 ou 0% (aucun malade n'est correctement identifié) à 1,0 ou 100% (tous les malades sont correctement identifiés, il n'y a aucun faux négatif).

L'évaluation de la sensibilité du test est présentée dans le tableau 4.

**Tableau 4: Evaluation de la sensibilité du test.**

test	Maladie présente	
	positif	VP
	négatif	FN
	Total	VP + FN

VP : Vrais Positifs

FN : Faux Négatifs

Se : Sensibilité

$$Se = \frac{VP}{VP + FN}$$

#### IV.4.1.3 Spécificité (Spe)

Un test qui serait 100% sensible aurait la capacité d'identifier correctement tous les patients qui ont la maladie, mais ne serait parfait que s'il identifiait correctement aussi les patients qui n'ont pas la maladie.

En pratique, la spécificité est le rapport du nombre de patients qui ont un test négatif et n'ont pas la maladie (les vraies négatifs) sur le nombre total de patients qui n'ont pas la maladie. La spécificité est une proportion et peut donc prendre des valeurs de 0,0 ou 0 % (aucun non-malade n'est correctement identifié) à 1,0 ou 100 % (tous les non-malades sont correctement identifiés ; il n'y a aucun faux positif).

L'évaluation de la spécificité du test est présentée dans le tableau 5.

**Tableau 5: Evaluation de la spécificité du test.**

		Maladie absente
test	positif	FP
	négatif	VN
Total		FP + VN

FP : Faux Positifs

VN : Vrais Négatifs

Spe : Spécificité

$$\text{Spe} = \frac{\text{VN}}{\text{FP} + \text{VN}}$$

#### IV.4.2 Mesures de la performance d'une stratégie diagnostique

On a considéré jusqu'à présent la mesure de la sensibilité et de la spécificité dans un contexte artificiel où on a la connaissance du vrai statut de malade ou de non-malade des patients. En pratique, on applique des procédures diagnostiques ou pour dépister les patients qui ont réellement la maladie.

##### IV.4.2.1 Valeur prédictive du résultat positif (VPP)

La valeur prédictive d'un test positif, plus fréquemment appelée valeur prédictive positive (VPP), est la proportion des tests positifs qui correspond à des vrais malades. C'est le rapport du nombre de vrais positifs sur le nombre total de tests positifs. La VPP est une proportion et peut donc prendre des valeurs de 0,0 ou 0% (aucun test positif ne correspond à des malades) à 1,0 ou 100 %. Une stratégie diagnostique ayant une VPP de 100 % est idéale pour affirmer la présence de la maladie. Ceci ne peut s'observer qu'en l'absence de faux positifs, donc avec un test spécifique à 100 %.

$$\text{VPP} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}}$$

#### **IV.4.2.2 Valeur prédictive du résultat négatif (VPN)**

La valeur prédictive d'un test négatif, ou valeur prédictive négative (VPN), est la proportion des tests négatifs qui correspondent à des non-malades. C'est le rapport du nombre de vrais négatifs sur le nombre total de tests négatifs. Comme la VPP, la VPN peut prendre des valeurs de 0,0 ou 0 % (aucun test négatif ne correspond à des non-malades) à 1,0 ou 100 %. Une stratégie diagnostique ayant une VPN de 100% est idéale pour affirmer l'absence de la maladie. Ceci ne peut s'observer qu'en l'absence de faux négatifs, donc avec un test sensible à 100 %.

$$\text{VPN} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}}$$

# RESULTATS

## RESULTATS

### I. MISE AU POINT DES TESTS ELISA

#### I.1 Tampon de saturation employé dans les tests ELISA

Nous avons utilisé les tampons suivants pour les tests :

- PBS-Tween 20 0,05%-caséine 1%,
- PBS-Tween 20 0,05%-BSA 3%,
- PBS-Tween 20 0,05%-régilait 5%.

Les valeurs des DO obtenues avec ces tampons sont données dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 6: Valeurs des DO des échantillons de sérum avec les trois tampons testés.**

Tampons	Echantillons	DO IgE	DO IgA	DO IgD
<b>PBS-T 20 0,05%-caséine 1%</b>	<b>S1</b>	0,987	1,213	1,724
	<b>S2</b>	0,536	0,674	1,245
	<b>S3</b>	0,171	0,129	0,173
<b>PBS-T 20 0,05%-BSA 3%</b>	<b>S1</b>	1,007	1,195	1,798
	<b>S2</b>	0,528	0,623	1,286
	<b>S2</b>	0,163	0,141	0,174
<b>PBS-T 20 0,05%-régilait 5%</b>	<b>S1</b>	1,062	1,225	1,803
	<b>S2</b>	0,545	0,672	1,303
	<b>S3</b>	0,174	0,139	0,169

Avant l'ajout du tampon de saturation, la plaque a été incubée par les glycoprotéines antigéniques CS-50 des cysticerques.

Aucune différence significative n'est observée sur les valeurs des DO. Cependant, une légère supériorité est observée pour le tampon PBS-Tween 20 0,05%-régilait 5%.Par conséquent, ce dernier sera le tampon de saturation utilisé dans la technique ELISA.

#### I.2 Dilutions des conjugués

Après les incubations des antigènes suivi des tampons de saturations et de ceux des échantillons, deux dilutions de conjugué ont été testées (1/500 et 1/1000) lors de la mise au point des techniques ELISA.

Le bruit de fond est le critère imposée dans la détermination des dilutions des conjugués convenable aux échantillons. Les dilutions présentant des valeurs de DO des contrôles (dans les puits sans antigènes) les plus bas sont les plus appropriées.

Le tableau suivant présente les valeurs des DO des sérums utilisés lors de l'expérimentation.

**Tableau 7: Tableau des valeurs des DO pour les dilutions des conjugués.**

		Dilutions des conjugués						
			IgE		IgA		IgD	
		Sérums	1/500	1/1000	1/500	1/1000	1/500	1/1000
Avec antigènes	S1	1,077	0,805	1,214	0,979	1,787	1,217	
	S2	0,529	0,334	0,650	0367	2,142	1,332	
	S3	0,171	0,167	0,142	0,136	0,177	0,107	
Contrôle	S1	0,095	0,091	0,133	0,139	0,120	0,088	
	S2	0,088	0,085	0,124	0,117	0,123	0,095	
	S3	0,074	0,075	0,106	0,099	0,097	0,089	

D'après les résultats, les dilutions de conjugué les plus adéquates sont indiquées dans le tableau8.

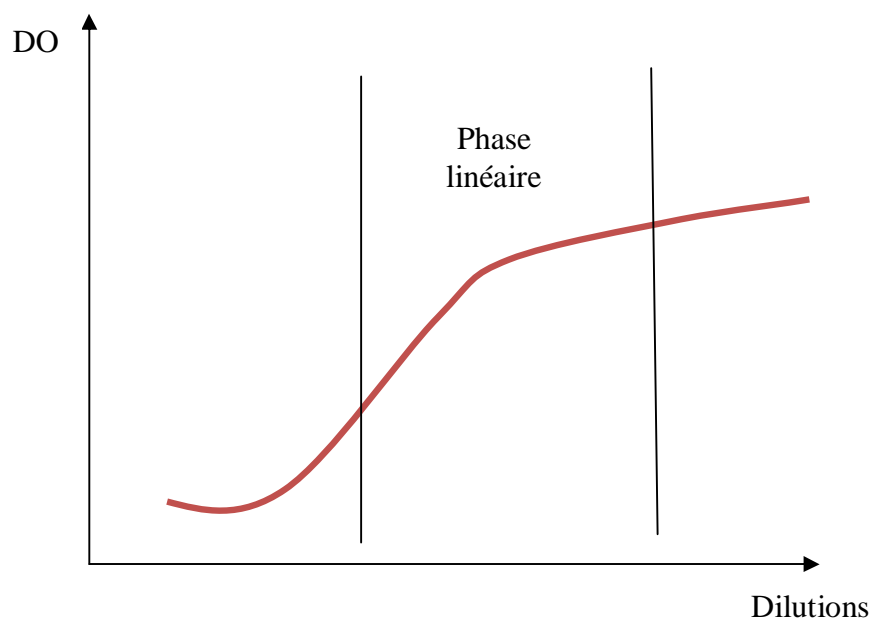
**Tableau 8: Dilutions adéquates des conjugués.**

Classes d'Ig	IgE	IgA	IgD
Dilutions des conjugués	1/500	1/500	1/1000

### I.3 Dilution des échantillons appropriés

La mesure de l'activité d'un échantillon doit être réalisée la phase linéaire de la courbe dilution DO, car la proportionnalité entre la quantité d'anticorps dans le sérum et la valeur de DO obtenu permet une comparaison de plusieurs sérums entre eux.

La courbe de linéarité est rapportée dans la figure 6.



**Figure 6: Courbe de linéarité.**

Ainsi, les dilutions adéquates pour réaliser les tests sont choisies pour ceux localiser dans la phase linéaire et dont les contrôles correspondants présentent des valeurs faibles de DO.

### **I.3.1 IgE**

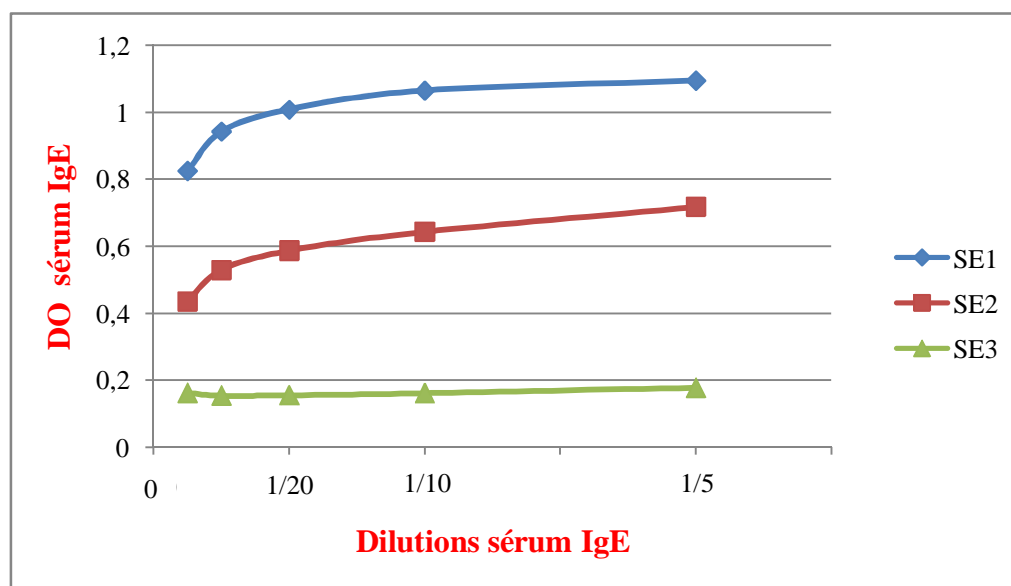
#### **❖ Sérums**

Dans cette expérimentation, cinq différentes dilutions ont été réalisées avec trois échantillons différents dont deux positifs (SE1 et SE2) et un négatif (SE3). Les résultats de ces dilutions sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 9: Valeurs de DO des sérums IgE à différentes dilutions.**

<b>IgE sérums</b>						
	<b>Dilutions</b>	<b>1/5</b>	<b>1/10</b>	<b>1/20</b>	<b>1/40</b>	<b>1/80</b>
<b>Avec antigène</b>	<b>SE1</b>	<b>1,095</b>	<b>1,065</b>	<b>1,008</b>	<b>0,942</b>	<b>0,824</b>
	<b>SE2</b>	<b>0,717</b>	<b>0,643</b>	<b>0,586</b>	<b>0,529</b>	<b>0,435</b>
	<b>SE3</b>	<b>0,178</b>	<b>0,162</b>	<b>0,156</b>	<b>0,155</b>	<b>0,163</b>
<b>Contrôles</b>	<b>SE1</b>	<b>0,154</b>	<b>0,141</b>	<b>0,118</b>	<b>0,112</b>	<b>0,094</b>
	<b>SE2</b>	<b>0,156</b>	<b>0,140</b>	<b>0,122</b>	<b>0,117</b>	<b>0,110</b>
	<b>SE3</b>	<b>0,121</b>	<b>0,112</b>	<b>0,095</b>	<b>0,098</b>	<b>0,087</b>

Ces valeurs nous ont permis à construire la courbe de linéarité qui est donnée dans la figure 7.



**Figure 7: Courbe de variation des sérums avec IgE.**

Après avoir observé les bruits de fond des puits contrôles de chaque échantillon et la zone de linéarité de la courbe, la dilution 1/20a été considérée comme la plus conforme.

#### ❖ LCR

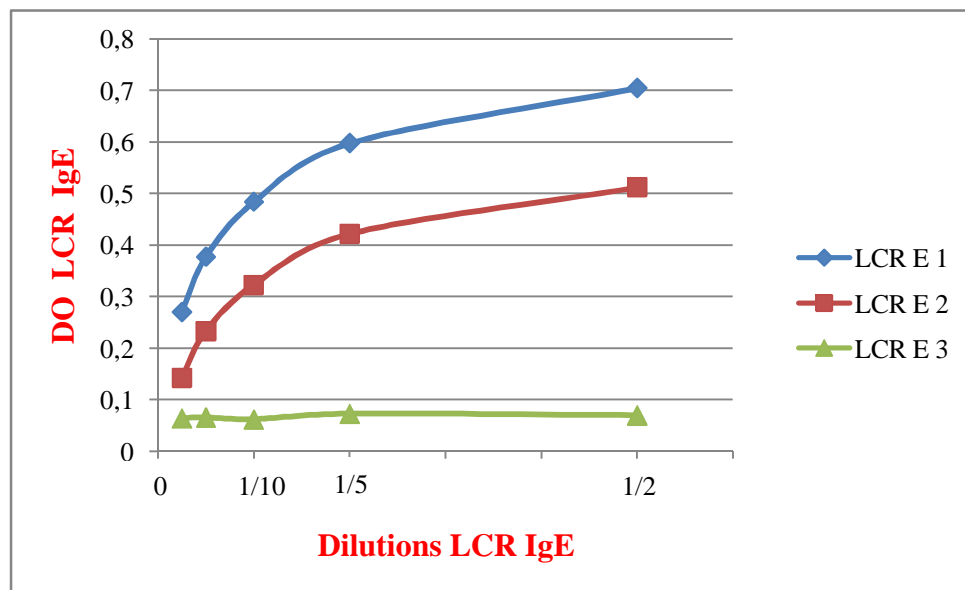
Comme dans le cas des sérums,deux LCR positifs LCR1 et LCR2 et un LCR négatif LCR3sont analysés.

**Tableau 10: Valeurs de DO des LCR IgE à différentes dilutions.**

IgE LCR						
	Dilutions	1/2	1/5	1/10	1/20	1/40
Avec antigène	LCR E1	0,705	0,598	0,484	0,377	0,270
	LCR E2	0,512	0,422	0,323	0,233	0,143
	LCR E3	0,070	0,073	0,062	0,066	0,064
Contrôles	LCR E1	0,074	0,073	0,071	0,068	0,056
	LCR E2	0,066	0,060	0,062	0,059	0,059
	LCR E3	0,061	0,059	0,062	0,061	0,058

La variation de ces valeurs est présentée par le graphe ci-dessous.





**Figure 8: Courbe de variation des LCR avec IgE.**

En regardant les valeurs des DO et la courbe de variation, la dilution choisie pour le LCR pour IgE est 1/5.

### I.3.2 IgA

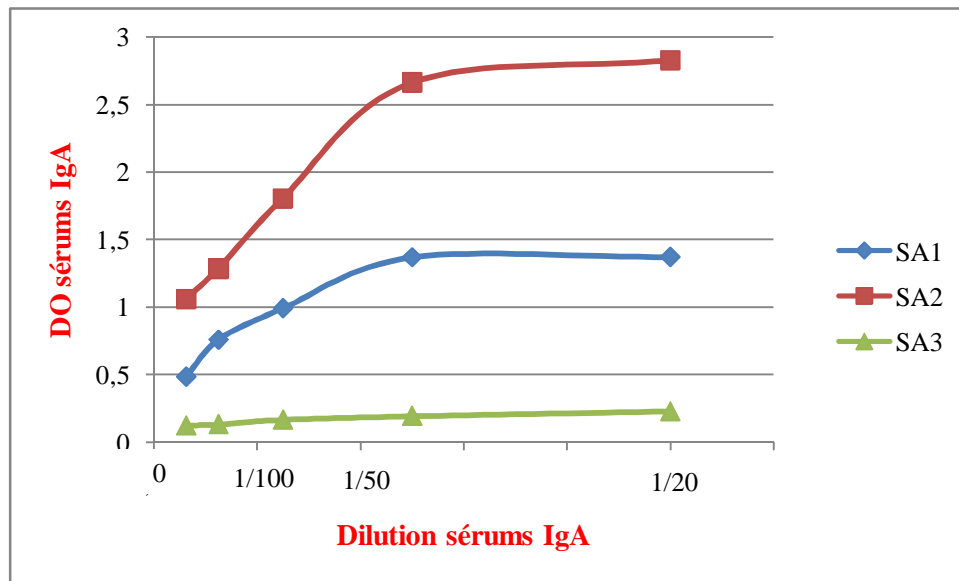
#### ❖ Sérums

SA1 et SA2, sérums positifs et SA3, sérum négatif ont été utilisés lors de cette manipulation. Les valeurs de DO de ces sérums sont présentées dans le tableau suivant.

**Tableau 11: Valeurs de DO des sérums IgA à différentes dilutions.**

IgA sérums						
	Dilutions	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
Avec antigène	SA1	1,373	1,371	0,993	0,7595	0,485
	SA2	2,827	2,664	1,806	1,2875	1,063
	SA3	0,23	0,195	0,168	0,134	0,126
Contrôles	SA1	0,249	0,219	0,158	0,132	0,117
	SA2	0,315	0,248	0,168	0,142	0,125
	SA3	0,178	0,163	0,139	0,119	0,112

Le changement des valeurs de DO de ces sérums en fonction des dilutions effectuées est figuré dans la courbe de variation de la figure 9.



**Figure 9: Courbe de variation des dilutions des sérums pour IgA.**

Après l'analyse de ces résultats, la dilution adéquate avec le sérum pour ELISA-IgA est 1/200.

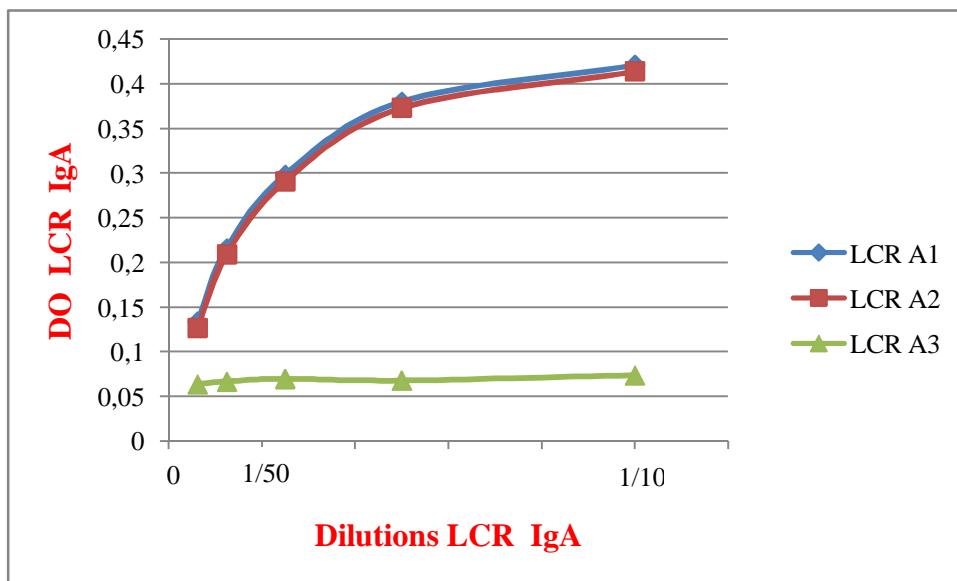
#### ❖ LCR

Comme avec les sérums, nous avons effectué cinq différentes dilutions avec trois LCR différents dont LCR1 et LCR2 positifs et LCR3 négatif.

**Tableau 12: Valeurs de DO des LCR IgA à différentes dilutions.**

	IgA LCR					
	Dilutions	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Avec antigène	LCR A1	0,421	0,38	0,298	0,216	0,134
	LCR A2	0,414	0,373	0,291	0,209	0,127
	LCR A3	0,074	0,068	0,07	0,067	0,064
Contrôles	LCR A1	0,070	0,068	0,069	0,057	0,060
	LCR A2	0,064	0,060	0,060	0,061	0,059
	LCR A3	0,063	0,060	0,058	0,057	0,059

La différence des valeurs de DO des dilutions effectuées est présentée par de la figure suivante.



**Figure 10: Courbe de linéarité des IgA pour les LCR.**

Parmi les dilutions réalisées, on constate que 1/20 est celle la plus conforme et sera utilisée pour la suite des études de LCR en IgA.

### I.3.3 IgD

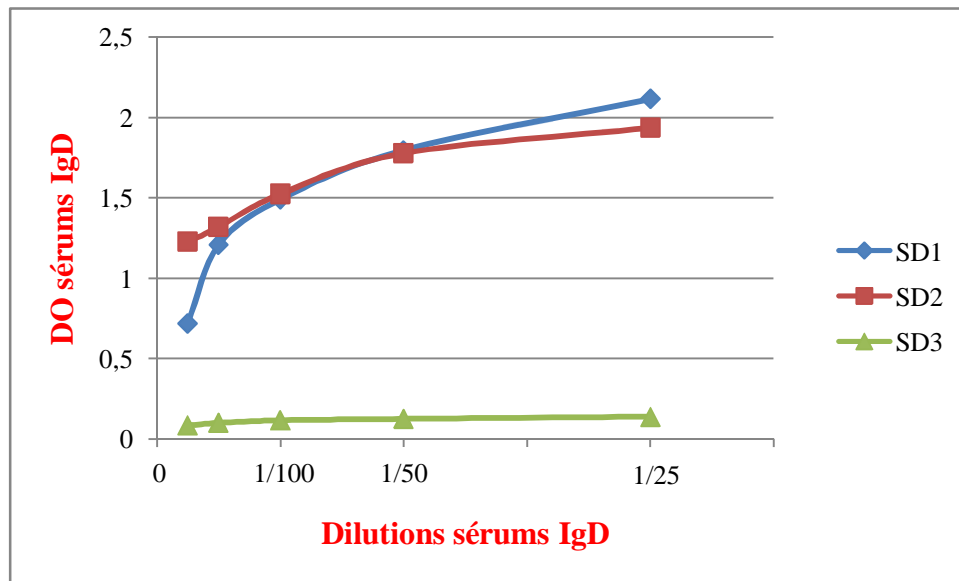
#### ❖ Sérums

SD1 et SD2, sérums positifs et SD3, sérum négatif ont été analysés dans cette partie.

**Tableau 13: Valeurs de DO des sérums IgD à différentes dilutions.**

		IgD Sérums				
	Dilutions	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400
Avec antigène	SD1	2,117	1,798	1,491	1,21	0,721
	SD2	1,938	1,78	1,525	1,321	1,228
	SD3	0,140	0,127	0,118	0,103	0,087
Contrôles	SD1	0,157	0,123	0,103	0,088	0,087
	SD2	0,125	0,118	0,103	0,095	0,096
	SD3	0,122	0,115	0,101	0,087	0,079

La variation de ces valeurs est présentée par la figure 11.



**Figure 11: Courbe de variation des dilutions des sérums avec IgD.**

A partir des résultats obtenus, la dilution convenable pour les sérums en IgD est 1/200.

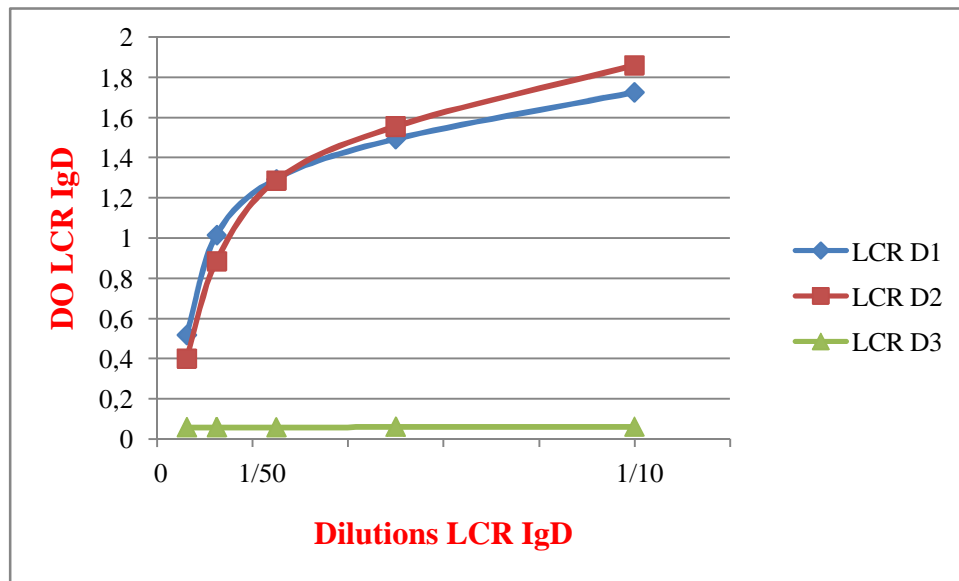
#### ❖ LCR

Comme dans toutes les analyses effectuées pour les autres classes d'Ig, les deux premiers échantillons (LCR1 et LCR2) sont positifs, mais le dernier échantillon (LCR3) est négatif.

**Tableau 14: Valeurs de DO des LCR IgD à différentes dilutions.**

	IgD LCR					
	Dilutions	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
Avec antigène	LCR D1	1,726	1,493	1,294	1,016	0,520
	LCR D2	1,860	1,556	1,287	0,886	0,402
	LCR D3	0,062	0,061	0,059	0,060	0,060
Contrôle	LCR D1	0,062	0,058	0,061	0,060	0,060
	LCR D2	0,067	0,062	0,061	0,060	0,062
	LCR D3	0,060	0,055	0,062	0,058	0,057

Les variations des valeurs de DO pour chaque dilution sont montrées dans la figure ci-après.



**Figure 12: Courbe de variation des dilutions des LCR pour IgD.**

D'après la courbe et les valeurs de DO, la dilution adéquate pour le LCR en IgD est la dilution 1/20. Cette dernière sera utilisée dans la suite du travail.

Les dilutions adéquates sont résumées dans le tableau suivant.

**Tableau 15: Dilutions adaptées aux échantillons.**

Classes d'Ig	IgE	IgA	IgD
Sérums	1/20	1/200	1/200
LCR	1/5	1/20	1/20

D'après la mise au point de la technique, les protocoles ELISA pour chaque classe d'Ig étudié sont donnés dans les tableaux suivants.

**Tableau 16: Protocole ELISA IgE.**

ETAPES	CONCENTRATION, DILUTIONS ET VOLUME PAR PUITS	TAMPONS	CONDITION D'INCUBATION
Antigène	2,5 µg/ml 100µl/puits	Tampon carbonate	Une nuit à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Saturation	150µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 5%	2h à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Sérums	1/20 50µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Conjugué IgE anti- humain marqué à la peroxydase	1/500 100µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Substrat	100µl/puits	OPD, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 20ml d'eau distillée	20 min à l'obscurité
Arrêt de la réaction	100µl/puits	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Lecture de la DO à 492 nm			

TA= Température ambiante.

**Tableau 17: Protocole ELISA IgA.**

ETAPES	CONCENTRATION, DILUTIONS ET VOLUME PAR PUITS	TAMPONS	CONDITION D'INCUBATION
Antigène	2,5 µg/ml 100µl/puit	Tampon carbonate	Une nuit à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Saturation	150µl/puit	PBS-T- 0,05% - régilait 5%	2h à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Sérums	1/200 50µl/puit	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Conjugué IgA anti- humain marqué à la peroxydase	1/500 100µl/puit	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Substrat	100µl/puit	OPD, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 20ml d'eau distillé	20 min à l'obscurité
Arrêt de la réaction	100µl/puit	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Lecture de la DO à 492 nm			

TA= Température ambiante.

**Tableau 18: Protocole ELISA IgD.**

ETAPES	CONCENTRATION, DILUTIONS ET VOLUME PAR PUITS	TAMPONS	CONDITION D'INCUBATION
Antigène	2,5 µg/ml 100µl/puits	Tampon carbonate	Une nuit à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Saturation	150µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 5%	2h à TA
Lavage 4x		PBS-T- 0,1%	
Sérums	1/200 50µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Conjugué IgD anti- humain marqué à la peroxydase	1/1000 100µl/puits	PBS-T- 0,05% - régilait 0,5%	2h à TA
Lavage 5x		PBS-T- 0,1%	
Substrat	100µl/puits	OPD, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 20ml d'eau distillée	20 min à l'obscurité
Arrêt de la réaction	100µl/puits	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Lecture de la DO à 492 nm			

TA= Température ambiante.

#### I.4 Recherche des témoins positifs

Les échantillons positifs pour la cysticercose (en scanner) ont été analysés avec les ELISA Ig(E, A, D) et ceux présentant des DO élevés ont été choisis comme témoins positifs.

**Tableau 19: Valeurs des DO des témoins positifs.**

Classes d'Ig	IgE	IgA	IgD
Sérums	1,00	1,200	1,300
LCR	0,550	0,380	1,400



## II. RESULTATS DE L'ETUDE DES CLASSES D'Ig

### II.1 Performance du test ELISA

Lors de cette étude, nous avons pris des sérums et LCR des sujets présentant des symptômes de la cysticercose, ayant consultés et/ou ayant été hospitalisés à l'hôpital Raseta Befelatanana. Le test de référence est le scanner cérébral.

#### II.1.1 Seuil de positivité

En prenant comme seuil de positivité la moyenne des DO nettes des sérums témoins négatifs ajoutée de deux écart-type, la valeur de DO seuil pour chaque Ig est donnée dans le tableau suivant :

**Tableau 20: Seuil de positivité des Ig.**

Classes d'Ig	IgE		IgA		IgD	
	Sérum	LCR	Sérum	LCR	Sérum	LCR
Moyenne des DO des échantillons négatifs	0,169	0,065	0,139	0,074	0,111	0,060
Ecart-type	0,0078	0,0047	0,017	0,0047	0,0133	0,0056
DO seuil	0,185	0,075	0,174	0,084	0,138	0,071

Par rapport aux valeurs seuils ainsi fixés, on peut identifier les sujets malades des non-malades.

Ces seuils de positivité ont permis de classer les sujets examinés par le test en 4 groupes (VP, VN, FP, FN).

VP= vrai positif

VN= vrai négatif

FP= faux positif

FN= faux négatif

Parmi les images des échantillons obtenues avec le test de référence scanner cérébral :

- ✓ ceux qui présentent des calcifications et/ou des contrastes médullaires confirmant la présence de cysticerques sont classés comme **scanners positifs**.
- ✓ ceux qui présentent des lésions autres que ceux du scanner positif, tels que des lésions parenchymateuses ou œdémateuses pour qui la présence des cysticerques

n'est pas confirmée. Nous avons classé ces résultats en tant que **scanners douteux**.

- ✓ des résultats qui ne montrent aucune anomalie c'est-à-dire normale sont considérés comme **scanners négatifs**.

Ainsi, lors de l'étude, deux cas ont été analysés avec les 80 couples de sérum-LCR:

- **dans le premier cas :**

Les échantillons présentant des scanners douteux et des scanners cérébraux normaux et ayant des valeurs de DO inférieures au seuil de positivité sont considérés comme des vrais négatifs (VN) pour la sérologie cysticercose et ceux présentant des scanners positifs et ayant des valeurs de DO supérieures au seuil de positivité sont des vraies sérologies positives (VP).

Les échantillons présentant des scanners douteux et des scanners cérébraux normaux et ayant des valeurs de DO supérieures au seuil de positivité sont considérés comme des faux positifs (FP) pour la sérologie cysticercose et ceux présentant des scanners positifs et ayant des valeurs de DO inférieures au seuil de positivité sont des faux seronégatifs (FN).

- **dans le second cas :**

Les échantillons présentant des scanners cérébraux normaux et ayant des valeurs de DO inférieures au seuil de positivité sont des vrais seronégatifs (VN) et ceux présentant des scanners positifs et des scanners douteux et ayant des valeurs de DO supérieures au seuil de positivité sont classés en tant que vrais seropositifs (VP).

Les échantillons présentant des scanners cérébraux normaux et ayant des valeurs de DO supérieures au seuil de positivité sont des faux positifs (FP) et ceux présentant des scanners positifs et des scanners douteux et ayant des valeurs de DO inférieures au seuil de positivité sont classés en tant que faux seronégatifs (FN).

Les résultats de ces deux cas sont présentés dans le tableau 21. C'est à partir de ce tableau de contingence qu'on peut calculer les performances du test ELISA (sensibilité et spécificité).

**Tableau 21: Tableau de contingence.**

		IgE		IgA		IgD	
		Sérums	LCR	Sérums	LCR	Sérums	LCR
<b>1<sup>er</sup> cas</b>	<b>VP</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>20</b>	<b>12</b>	<b>24</b>	<b>8</b>
	<b>FP</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>40</b>	<b>14</b>	<b>42</b>	<b>6</b>
	<b>FN</b>	<b>19</b>	<b>25</b>	<b>9</b>	<b>17</b>	<b>5</b>	<b>21</b>
	<b>VN</b>	<b>40</b>	<b>45</b>	<b>11</b>	<b>37</b>	<b>9</b>	<b>45</b>
	<b>Total</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>
<b>2<sup>nd</sup> cas</b>	<b>VP</b>	<b>14</b>	<b>7</b>	<b>40</b>	<b>18</b>	<b>44</b>	<b>10</b>
	<b>FP</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>20</b>	<b>8</b>	<b>22</b>	<b>4</b>
	<b>FN</b>	<b>40</b>	<b>47</b>	<b>14</b>	<b>36</b>	<b>10</b>	<b>44</b>
	<b>VN</b>	<b>19</b>	<b>23</b>	<b>6</b>	<b>18</b>	<b>4</b>	<b>22</b>
	<b>Total</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>	<b>80</b>

### II.1.2 Sensibilité et spécificité

La fréquence relative des VP, FP, FN, VN dépend du seuil de positivité et des résultats du scanner. Plus le seuil est bas, plus grand sera le nombre de malades identifiés, mais plus grand sera également le nombre de faux positifs. Réciproquement, plus le seuil est haut, plus grand sera le nombre de non-malades identifiés, mais plus grand sera le nombre de faux négatifs (Dabis et al., 2010).

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent que la performance du test ELISA pour chaque classe d'Ig est très différente lors de l'infection par les cysticerques et durant la présentation des symptômes semblables à l'infection. Aussi, la quantité d'Ig présente dans le sérum est tout à fait différente de celle dans le LCR.

**Tableau 22: Sensibilité et spécificité, valeurs prédictives des résultats positifs et négatifs.**

	SERUMS		LCR	
	1 <sup>er</sup> cas	2 <sup>nd</sup> cas	1 <sup>er</sup> cas	2 <sup>nd</sup> cas
<b>IgE</b>	Se= 34,48% Spe= 78,43% VPP= 47,62% VPN= 67,80%	Se= 25,93% Spe= 73,08% VPP= 66,67% VPN= 32,20%	Se= 13,79% Spe= 88,24% VPP= 40% VPN= 64,29%	Se= 12,96% Spe= 88,46% VPP= 70% VPN= 32,86%
<b>IgA</b>	Se= 68,97% Spe= 21,57% VPP= 50% VPN= 55%	Se= 74,07% Spe= 23,07% VPP= 66,66% VPN= 30%	Se= 41,37% Spe= 72,54% VPP= 46,15% VPN= 68,51%	Se= 33,33% Spe= 69,23% VPP= 69,23% VPN= 33,33%
<b>IgD</b>	Se= 82,75% Spe= 17,64% VPP= 36,36% VPN= 64,28%	Se= 81,48% Spe= 15,88% VPP= 66,67% VPN= 28,57%	Se= 27,58% Spe= 88,23% VPP= 57,14% VPN= 68,18%	Se= 18,52% Spe= 84,62% VPP= 71,43% VPN= 33,33%

**Se** : sensibilité

**Spe** : spécificité

**VPP** : valeur prédictive des résultats positifs

**VPN** : valeur prédictive des résultats négatifs

- **Dans le premier cas**

Au niveau du sérum, ELISA-IgD est plus sensible (Se= 82,75%) par rapport aux deux autres classes d'Ig étudiées, et ELISA-IgE le plus spécifique (Spe= 78,43%).

Au niveau du LCR, les sensibilités des tests sont assez basses pour les trois classes d'Ig étudiées avec une légère supériorité pour l'ELISA-IgA (Se=41,37%). Par contre, les spécificités des LCR sont assez élevées avec ELISA-IgE et ELISA-IgD qui présentent à peu près les mêmes valeurs (IgE-Spe= 88,24% et IgD-Spe=88,23%).

- **Dans le second cas**

Pour les sérums, l'ELISA-IgD est encore la plus sensible (Se=81,48%) et ELISA-IgE le plus spécifique (Spe=73,08%). En ce qui concerne les LCR, les sensibilités sont très basses

avec une légère supériorité pour ELISA-IgA ( $Se=33,33\%$ ) mais les deux autres classes (ELISA-IgE et ELISA-IgD) présentent des spécificités assez élevées (88,46% et 84,62%).

## **II.2 Performance d'une stratégie diagnostique**

La performance d'une stratégie diagnostique détecte la proportion présentant un test positif correspond à des vrais malades et celle des sujets présentant un test négatif correspond à des sujets vraiment exempts de la maladie.

### **Dans le premier cas**

Pour les sérums, ELISA-IgA ( $VPP= 50\%$ ) détecte mieux les vrais échantillons positifs. Cela signifie qu'il y a moins d'individus classés comme faux positifs dans ELISA-IgA. ELISA-IgE ( $VPN= 67,80\%$ ) décèle plus les échantillons négatifs par rapport aux autres classes étudiées.

Pour les LCR, ELISA-IgD présente la VPP ( $VPP= 57,14\%$ ) élevée et pour ELISA-IgE la VPN ( $VPN=68,51\%$ ) est élevée.

### **Dans le second cas**

Pour les sérums, les trois classes présentent la même performance dans la détection des faux positifs avec  $VPP= 66,67\%$  et leurs VPN sont assez faibles dont celle de l'ELISA-IgE est la plus élevée (32,20%).

Les VPP et VPN des classes d'Ig dans les LCR ne présentent aucune différence significative.

# **DISCUSSION**

## DISCUSSION

Les outils les plus spécifiques pour le diagnostic de la NCC sont les techniques d'imagerie. Cependant ces dernières sont coûteuses et sont rarement accessibles dans les zones les plus touchées (Willingham, 2006). Il est alors indispensable de mettre en place des outils de diagnostic pas chers et fiables tels que les tests sérologiques afin de contrôler et d'éradiquer la cysticercose (Donald, 1998).

Les immunoglobulines (Ig) sont diverses par leur fonction, leur spécificité vis-à-vis d'un antigène (Dahmani et al., 2009). Pour le cas de l'infection par *Taenia solium*, la réponse immunitaire humorale est assurée principalement par les IgG. Certains patients ont des anticorps IgM, IgA et IgE contre les cysticerques, toutefois, ces réponses sous-classe sont moins fréquentes que les IgG. La production d'anticorps dans les liquides biologiques en fixant les compléments est l'un des facteurs le plus efficace dans le mécanisme de protection contre les cysticerques. Dans le cas de la neurocysticercose (NCC), des niveaux d'anticorps sont détectés dans le sérum et dans le LCR, la corrélation entre les résultats du sérum et du LCR est souvent bonne pour IgG (Esterre et al., 2009) traduisant souvent une diffusion des IgG dans le LCR et non leur production locale plus pathognomonique des infections du SNC. Par conséquent, les tests sérologiques comparatifs entre le LCR et le sérum sont de plus en plus utilisés pour faciliter le diagnostic des infections cérébrales.

Les méthodes immuno-enzymatiques telles que l'ELISA et l'EITB sont maintenant couramment utilisées en recherche médicale. On apprécie surtout la sensibilité et la simplicité de la technique ELISA (Raveloson, 1978).

Vue sa performance dans le diagnostic sérologique ELISA-IgG, nous avons utilisé l'antigène CS-50 obtenu après purification de l'extrait brut des cysticerques pour la standardisation des techniques ELISA-Ig(A, E, D).

Lors de la mise au point de la technique, différents tampons et dilutions ont été testés afin d'éviter les liaisons non spécifiques responsables de bruit de fond :

- pour la saturation de la plaque, aucune différence significative entre PBS-T 0,05%-caséine 1%, PBS-T 0,05%-SAB 3% et PBS-T 0,05%-régilait 5% n'a été notée. Pourtant une légère supériorité a été observée avec le tampon PBS-T 0,05%-régilait 5% ; alors que l'étude menée par Bueno et ses collaborateurs (Bueno et al., 2000) a montré que le tampon PBS-T 0,05% lait 5% s'avère plus spécifique dans la réalisation de la technique ELISA-Ig(E, A, G) avec l'antigène de *Taenia crassiceps*. Le tampon PBS-T 0,05% BSA 1% est utilisé dans la quantification de l'IgD avec les sérums des patients présentant de l'allergie

(Zhang et al., 1994) , alors que d' après la mise au point du test ELISA-IgG, l'IPM a choisi le tampon PBS-T 0,05% caséine 1% (Rakotondrazaka, 1997).

- pour les sérums, les LCR et les conjugués, le tampon de blocage choisi est dilué au dixième. Les dilutions des échantillons ainsi que des conjugués ne sont pas les mêmes pour chaque classes d'Ig étudiée. Elles sont plus élevées pour la classe d'IgE (sérum : 1/20 et LCR : 1/5). Cela peut s'expliquer par le faible taux d'IgE sérique (0,05µg/ml) en comparaison des autres isotypes d'immunoglobulines IgA et IgD (Male et al.2007). Les taux des anticorps présents dans différents liquides biologiques ne sont pas les mêmes, ainsi la quantité d'Ig dans le sérum est différente de celle dans le LCR (Sahu et al. 2009).

Les résultats du scanner cérébral utilisés comme test de référence et le seuil de positivité de la technique ELISA ont permis d'identifier les malades des non malades, les faux positifs des faux négatifs.

D'après l'analyse effectuée, les valeurs des seuils de positivité des échantillons de sérums testés sont inférieures à 0,200 et ne dépassent pas 0,100 pour le LCR. Comme le seuil de positivité est calculé à partir des témoins négatifs, ces valeurs pourraient être dues aux faibles absorbances de ces témoins négatifs. Ces résultats sont confirmés par des études publiées sur *Taenia crassiceps* montrant des seuils de positivité (IgA) de 0,070 dans le sérum et dans le LCR alors qu'avec la classe d'IgE, ces valeurs sont de 0,135 pour les sérums et 0,252 pour les LCR. La classe IgG analysée avec ce même antigène présente des seuils de positivité de 0,097 au niveau de sérums et 0,011 dans le LCR, avec la prise en considération des valeurs de DO des puits contrôles pour ce dernier cas (Bueno et al. 2000).

Une étude réalisée avec l'extrait saline de cysticerques de *Taenia solium* pour les IgG donne des seuils de positivité 0,400 pour les sérums et 0,078 avec les LCR (Bueno et al. 2000). Alors qu'à l'IPM, ELISA IgG anti-CS-50 est utilisé avec un seuil de positivité de 0,400 pour le sérum.

La fréquence relative des VP, VN, FP et FN varie avec le seuil de positivité. Plus le seuil est bas, plus grand sera le nombre de malades correctement identifiés (VP), mais plus grand sera également le nombre de faux positifs. Réciproquement, plus le seuil est haut, plus grand sera le nombre de non-malades correctement identifiés (VN), mais plus grand sera également le nombre de faux négatifs. Le seuil bas aura donc comme effet d'augmenter la



sensibilité mais de diminuer la spécificité; au contraire, un seuil haut augmentera la spécificité mais diminuera la sensibilité (Pawloswski et al.2005).

Tous les tests diagnostiques ne sont pas équivalents en terme de performance; cette diversité rend souvent difficile l'interprétation des résultats. La performance d'une stratégie diagnostique détecte la proportion présentant un test positif correspond à des vrais malades et celle des sujets présentant un test négatif correspond à des sujets vraiment exempts de la maladie.

La spécificité et la sensibilité d'un test sérologique diffèrent d'un laboratoire à l'autre (Rajaoarifetra, 2003). Cette variabilité peut être due à de nombreux facteurs, tels que la dilution des produits biologiques, le seuil de positivité adopté, la nature biochimique de l'antigène, le niveau d'endémicité (Razafindrahaja, 2007).

Les sensibilités et les spécificités des tests ELISA ont été calculées à partir du seuil de positivité pour les différentes classes d'Ig sur une même population.

Dans cette étude, les résultats douteux de scanner cérébral ont été analysés selon deux stratégies sans que cela induise une différence significative des sensibilités et des spécificités aussi bien pour les sérums que pour les LCR.

Pour les sérums, le seuil de positivité de la classe IgD est plus faible (bruit de fond moins élevé), cela a comme effets d'augmenter les sensibilités pour les deux cas, qui sont supérieures à 80% et de diminuer les spécificités, inférieures à 20%.

Au contraire, pour les sérums IgE, avec un seuil de positivité plus élevé par rapport aux autres classes étudiées, les sensibilités sont assez faibles dans les deux cas (inférieures à 35%) mais les sensibilités sont plus élevées (supérieures à 70%).

Pour le cas des LCR, le seuil de positivité d'IgA est élevé avec des sensibilités supérieures à 40% et des spécificités assez basses que les autres classes. Des résultats différents ont été signalés par d'autres auteurs, l'étude menée par Espinoza et ses collaborateurs (Espinoza et al., 1989) sur des cysticerques de *Taenia solium* a montré une sensibilité de 25% (sérum) et de 13% (LCR) pour l'IgA. Dans le cas des IgE, les sensibilités sont de 3% aussi bien dans le sérum que dans le LCR soulignant le peu d'intérêt de cet isotype en terme de diagnostic.

Les valeurs prédictives sont fortement dépendantes de la sensibilité (pour la VPN) et de la spécificité (pour la VPP). Ces valeurs varient également en fonction de la prévalence de la maladie. Ainsi nos résultats de VPP et VPN sont aussi assez basses pour les trois classes d'Ig étudiées.

Les résultats obtenus ont montré des taux plus élevés en IgD par rapport aux deux autres classes (IgA, IgE) dans le sérum et IgA par rapport aux IgD et IgE dans le LCR. La performance du test ELISA mis au point pour chaque classe d'Ig étudié est assez faible aussi bien dans le sérum que dans le LCR par rapport au test ELISA IgG. Certains auteurs ont suggéré que les IgM, IgA et IgE ne sont pas impliquées dans la réponse immunitaire contre la NCC (Bueno et al., 2000). Toutefois, d'autres auteurs ont pu identifier dans le sérum des niveaux différents d'immunoglobulines (E>G>M>A>D).

De nombreuses études de cysticercoses ont montré que les anticorps sont capables de conférer l'immunité. Peu d'informations sont disponibles concernant la cinétique de la production d'anticorps notamment au cours de la mort spontanée du cysticerque. Ces derniers inhibent le développement des larves. En plus de leurs effets directs, il est possible que les anticorps exercent leur action antiparasitaire par d'autres mécanismes. En outre, les anticorps ont été trouvés à modifier la perméabilité des cysticerques et d'interférer avec leurs métabolismes.

Il est possible que les hôtes les plus infectés produisent ces différentes classes d'anticorps, qui apparaissent à différents intervalles après l'infection, en réponse aux antigènes libérés lors du développement parasitaire (Dorny et al., 2003). L'utilisation des isotypes pour « dater » la maladie a été développée pour la toxoplasmose nos résultats permettent une telle analyse (en cours). De même le rapport entre anticorps dans le sérum et dans le LCR peut être étudié pour chaque sujet bien que les ELISA soient différentes pour leur protocole.

Il y a cependant, un cas de NCC dans laquelle des anticorps sériques ne sont pas détectables et un certain nombre de cas de NCC non confirmés dans lesquels les anticorps dirigés contre *Taenia solium* sont détectés (Sahu et al., 2009).

**CONCLUSION**  
**ET**  
**PERSPECTIVES**

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Malgré la disponibilité de techniques modernes d'imagerie médicale, en particulier la tomodensitométrie (scanner) et les techniques sérologiques mises en place, la cysticercose demeure une maladie grave difficile à diagnostiquer. Mais dans un certain nombre de pays en voie de développement, dont Madagascar, le scanner reste inabordable aboutissant à un excès de confiance dans le diagnostic immunologique tels que l'ELISA et l'EITB. Ainsi notre travail contribue à l'étude des sous classes d'immunoglobulines A,E,D dans la cysticercose humaine. Les résultats obtenus dans le cadre de nos recherches bien qu'ils soient encore préliminaires ont permis de :

- de mettre au point des protocoles de technique ELISA IgE, IgA, IgD.
- de détecter ces trois classes d'anticorps dirigés contre *Cysticercus cellulosae*.
- de déterminer la performance du test : faible sensibilité et faible spécificité. Ces résultats pourraient être expliqués par la faible quantité de ces classes d'anticorps dans l'organisme ou par le fait que ces anticorps apparaissent à un moment dans l'infection.

Les résultats obtenus ont montré des taux plus élevés des IgD par rapport aux deux autres classes (IgA, IgE) dans le sérum et IgA par rapport aux IgD et IgE dans le LCR

Bien que la technique ELISA soit simple et facile à entreprendre, la comparaison de cette dernière avec un test de référence comme l'EITB qui est plus sensible et spécifique s'avère indispensable.

Dans l'avenir, nous envisageons d'évaluer les cinétiques de ces isotypes afin de préciser l'apparition et la datation de l'infection.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### BIBLIOGRAPHIE

1. Abdulssalam M., Gemmell M.A., Griffiths R.B., Grossklaus D., Kagan I.G., Slais J., Soulsby E.J.L. Recherches nécessaires en matière de ténia-cysticercose. *Bulletin de l'OMS* 1976; **53** (1): 371-378.
2. Acha N.P., Boris S. Zoonoses et maladie transmissibles communes à l'Homme et aux animaux. 3<sup>ème</sup> édition, 2005 ; **3**.
3. Andiantsimahavandy A., Rabarijaona L.P., Ramarokoto C.E., Leutscher P., Migliani R. Situation épidémiologique actuelle de la cysticercose à Madagascar. *Arch Inst Pasteur de Madagascar* 2003 ; **69** (1&2): 46-51.
4. Andrianantenaina L.H.M. Le Ravitoto dans le traitement de la cysticercose. Thèse de doctorat en Médecine. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, 2003 ; N°6604.
5. Andriansimahavandy A. La réaction immune dans la cysticercose : Application au problème du diagnostic et à l'épidémiologie à Madagascar. Thèse de doctorat en Biochimie Médicale. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, 1996.
6. Aubry P. cysticercose : Actualités 2008. *Médecine Tropicale* 2009.
7. Barcelos, I.S., Mineo, J.R., De Oliveira S., D.A., Ferreira, M.S., de Moura, L.P., Biondi, G.F., Costa-Cruz. Detection of IgG in cerebrospinal fluid for diagnosis of neurocysticercosis: evaluation of saline and SDS extracts from *Taenia solium* and *Taenia crassiceps* metacestodes by ELISA and immunoblot assay. *Trop. Med*, 2001; 6: 219-226.
8. Bouteille B., Michelet L., Fleury A., Sciutto E., Kendjo E., Fragoso G., Paris L. Comparaison of Different Diagnostic Test Using Cerebrospinal Fluid. *Journal of clinical Microbiology*, jan 2011; **49**(1): 195-200.
9. Bronstein J.A., Klotz F. Cestodes larvaires. EMC- Maladies Infectieuses 2005 ; **2** : 59-83.
10. Bueno E.C., Vaz A.J., Machado L.D.R., livramento J.A. Detection OF IgG, IgA AND IgE antibodies in cerebrospinal fluid, serum and saliva samples by elisa with *Taenia solium* and taenia crassiceps antigens. *Arq Neuropsiquiatr*, 2000; **58**(1): 18-24.
11. Burkhardt K. La cysticercose du système nerveux central: expérience de la neuropathologie genevoise dans le diagnostic d'une infection parasitaire fréquente. Thèse de doctorat : Univ. Genève, 2010, no. Med. 10621.

12. Carvalho F.R. Reserve ELISA using Monoclonal antibodies against SAG1- Related sequence, SAG2A, and P97 Antigens from *Toxoplasma gondii* to detect specific Immunoglobulin G, M, A antibodies. *Clinical and vaccine Immunology*, 2008.
13. Chavarria A., Fleury A., Bobes R.J., Morales J, Fragoso G., Sciutto E. A depressed peripheral cellular immune response is related to symptomatic neurocysticercosis. *Microbes Infect* 2006; **8**:1082–9.
14. Chavarria A., Fleury A., Garcia E., Marquez C., Fragoso G., Sciutto E. Relationship between the clinical heterogeneity of neurocysticercosis and the immune-inflammatory profiles. *Clin Immunol* 2005; **116**:271–8.
15. Choi B.K., Hwang B.W. Herniated Lumbar Disc Combined with Spinal Intradural Extramedullary Cysticercosis. *The Korean Neurological Society* 2010; **48**: 547-550.
16. Dabis F., Drucker J., Moren A. Master Sciences, Technologies, Santé, Mention Santé Publique, 2009-2010 : Épidémiologie d'intervention : Dépistage. Bordeaux : Université Victor Segalen Bordeaux2, *ISPED* ; 2010.
17. Dahmani O., Belcaid A., Azzouzi O.E., Hami H.E. Les immunoglobulines : structure et fonction. Cours biologie, 2009.
18. Dilip K.B. Cysticercosis of masseter. Department of Dentistry, Seven Hills Hospital, Mumbai, India. *Indian journal of Dental Research* 2011; **22** (4): 617.
19. Donald P.M., Molecular Parasitology Unit, Tropical Health and Nutrition, The Queensland Institute of Medical Research. Cysticercosis. In *Encyclopedia of Immunology* 1998. Brisbane, Queensland, Australia: 690.
20. Dorny P., Brandt J., Zoli A., Geerts S. Immunodiagnostic tools for human and porcine cysticercosis. *Acta Tropica*, 2003; **87**: 79- 86.
21. Espinoza B., Palacios G.R., Tovar A., Sandoval M.A., Plancarte A., Flisser A. Characterization by ELISA of the humoral immune response in patients with neurocysticercosis and its application in immunodiagnosis. *J Clin Microbiol*, 1986; **24**: 536-541.
22. Esterre Ph., Andriantsimahavandy A., Boissier P. Relations entre pathologie et immunité dans la cysticercose. *Arch Inst Pasteur Madagascar*, 1994 ; **61**(1): 14-20.
23. Fernando S.A., Tellez A., Lindh J. Evaluations of an immunodot blot technique for the detection of antibodies against *Taenia solium* larval antigens. *Parasitol Res*, jan 2012.
24. Flisser A., Pérez-Montfort R., Larralde C. The immunology of human and animal cysticercosis. Mexico, *Bulletin of the World Health Organisation* 1979; **57** (5): 839-856.

25. Flisser A., Rodriguez-Canul R., Willingham A.L.III. Control of the taeniosis/cysticercose complex: Future developments. *Veterinary Parasitology*, 2006; **139**: 283-292.
26. Garcia H.H. Epidemiologia y control de la cisticercosis en el Perú. *Peru Med Exp Salud Publica* 2010 ; **27** (4) : 592-597.
27. Jeong-Eum K. A case of Piperacillin-induced occupational Anaphylaxis: Detection of serum IgE to Piperacillin-HAS conjugate. *J. Immunol Methods*, 2011.
28. Liang Y.M. A simple method for measuring human cell-bound IgE levels in whole blood. *J. Immunol Methods*, 2009.
29. Magniez F. La technique ELISA. *Biotechnologie*, 2008.
30. Male D., Brostoff J., Roth D.B., Roitt I. Immunologie. 7<sup>ème</sup> edition. *Elsevier Masson SAS*, 2007.
31. Malla N., Kaur M., Kaur U., Ganguly N.K., Mahajan R.C. Evaluation of enzyme linked immunosorbent-assay for the detection of anticysticercus antibodies in cerebrospinal fluid from patients with neurocysticercosis. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol*, 1992 ; **36**:181–190.
32. Manuel Terrestre de l'OIE. Cysticercoses : Chapitre 2.9.5, 2008 ; 1332-1343.
33. Morales N.M.O., Agapejev S., Morales R.R., Padula N.A.M.R., Lima M.M.F. clinical aspects of neurocysticercosis in children. *Pediatr Neurol*, 2000; **22**: 287-291.
34. Patel R., Jha S., Yadav R.K. Pleomorphism of the clinical manifestations of neurocysticercosis. Neurology Departement, Sanjay Gandhi PGIMS, Lucknow, India. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2006; **100**: 134-141.
35. Pawlowski Z., Allan J., Sarti E. Control of Taenia solium taeniasis/cysticercosis: From research towards implementation. *International Journal for Parasitology*, 2005; **35**: 1221–1232.
36. Peng Z. Total serum IgD is increased in atopic subject. *J. Immunol*, 1991.
37. Prasad K.N., Prasad A., Verma A., Singh A.K.. human cysticercosis and indian scenario. *J. Biosci*, Nov 2008, **33**(4): 571–582.
38. Rajaoarifetra J. hypertension artérielle systématique symptomatique de la cysticercose. Thèse de doctorat en Médecine : Université d'Antananarivo, 2003, N°6647.
39. Rakotondrazaka M.J. Purification d'antigène glycoprotéiques de *Cysticercus cellulosae*. Application au diagnostic de la (neuro)cysticercose par ELISA. Mémoire de DEA en Biochimie Médicale. Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo, 1997.



40. Rakotoson A., Carod J.F., Andriantseho L.M., Razafimahefa J. La cysticercose cérébrale à Madagascar : proposition d'un algorithme de diagnostic. *Médecine Tropicale* 2008 ; **68** : 640-642.
41. Raveloson A. la cysticercose à Madagascar. Thèse de doctorat en Médecine. Faculté de Médecin, Université de Madagascar, 1978 ; n°21.
42. Razafindrahaja VT. Neurocysticercose : epidemio-clinique et coût de prise en charge. Thèse de Doctorat en Médecine. Faculté de Médecine, Université d'Antananarivo, 2007 ; N° 7542.
43. Restrepo BI, Llaguno P, Sandoval MA, Enciso JA, Teale JM. Analysis of immune lesions in neurocysticercosis patients: central nervous system response to helminth appears Th1-like instead of Th2. *J Neuroimmunol* 1998; **89**:64–72.
44. Rolfs A., Muhlschlegel F., Jansen-Rosseck R., Martins A.R., Bedaque E.A., Tamburus W.M. Clinical and immunologic follow-up study of patients with neurocysticercosis after treatment with praziquantel. *Neurology* 1995; **45**: 532–8.
45. Sahu P.S., Parija S.C., Narayan S.K., Kumar D. Evaluation of an IgG-ELISA strategy using *Taenia solium* metacestode somatic and excretory–secretory antigens for diagnosis of neurocysticercosis revealing biological stage of the larvae. *Acta Tropica*, 2009; **110**: 38-45.
46. Schantz P.M. Progress in diagnosis, treatment and elimination of echinococcosis and cysticercosis. *Parasitology International*, 2006; **55**: S7-S13.
47. Sciutto E., Fragoso G., Larralde C. The immune response in *Taenia solium* cysticercosis : protection and injury. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, México D.F., México. *Parasite immunology* 2007 ; **29** : 621-636.
48. Sorvillo F., Wilkins P., Shafir S., Eberhard M. Public Health Implications of Cysticercosis Acquired in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, January 2011; 17 (1).
49. Takayanagui O.M., Odashima N.S. Clinical aspects of neurocysticercosis. *Parasitology International*, 2006; **55**: S111-S115.
50. Tchamdja E. Mise au point et étude des performances d'un test ELISA pour la détection d'anticorps dirigés contre *Cysticercus cellulosae* chez l'Homme. Thèse de Master of Science en Santé Animale Tropicale. Antwerpen (Anvers), Belgique : Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, 2007 ; N° 77.

51. Tian X.J., Li J.Y., Huang Y., Xue Y.P.. Preliminary analysis of cerebrospinal fluid proteome in patients with neurocysticercosis. *Institute de recherche Médecine Tropicale*, Beijing, Mai 2009; **122**(9): 1003-1008.
52. Université Médicale Virtuelle Francophone. Taeniasis et Cysticercose. *Support de cours*, 2008-2009.
53. Willingham A.L. III. Control of *Taenia solium* cysticercosis/Taeniosis. In *Parasitology* 2006; **61**: 509-547.
54. Yanagida T., Sako Y., Nako M., Nakaya K., Ito A. Taeniasis and Cysicercosis due to *taenia solium* in Japan. *Parasites & Vectors* 2012, **5**: 18.
55. Zhang M. Measurement of Allergen-specific IgD and correlation with Allergen-specific IgE. *J. Immunol*, 1994.
56. Zoli A., Shey-Njila O., Assana E., Nguekam J.P. Regional status, epidemiology and impact of *Taenia solium* cysticercosis in Western and Central Africa. *Acta Tropica* 2003; **87**: 35-42.

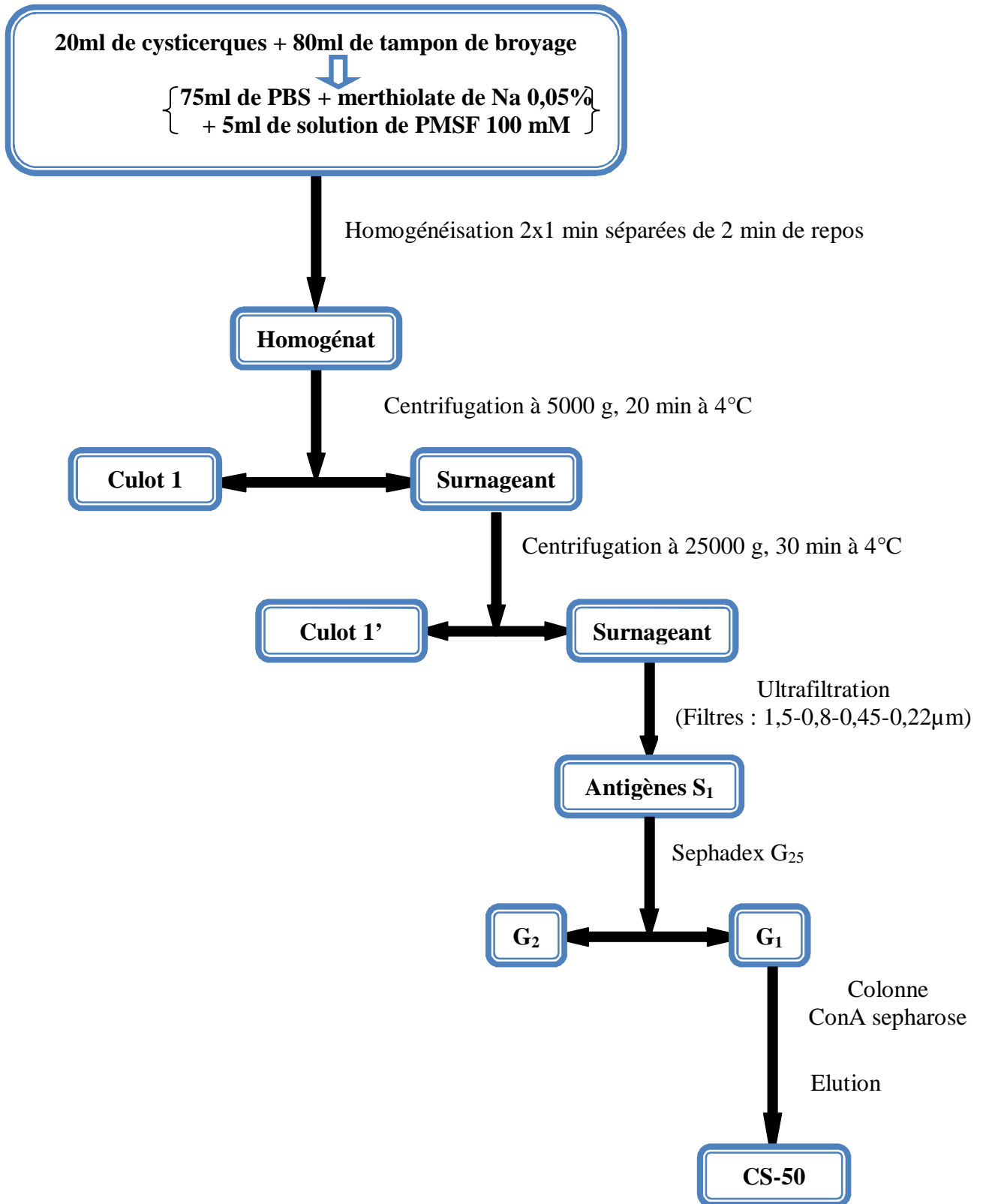
## WEBOGRAPHIE

1. Baer J.G. Cestodes. *Encyclopedia Universalis*.  
[http ://www.universalis.fr/encyclopedia/cestodes](http://www.universalis.fr/encyclopedia/cestodes).
2. Golvan Y. Cysticercoses. *Encyclopedia Universalis*.  
[http ://www.universalis.fr/encyclopedia/cestodes](http://www.universalis.fr/encyclopedia/cestodes).
3. Neurophysiologie. Liquide céphalo-rachidien: composition et circulation. *Neuroclub*.  
<http://www.neuro-club.info/neuro-lcr.htm>
4. Organisation Mondiale de la Santé (OMS).2002.Cinquante-cinquième Assemblée Mondiale de la Santé : Lutte contre la cysticercose:  
[http://www.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA55/fa5523.pdf](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/fa5523.pdf)

# **ANNEXES**

## ANNEXE 1:

### Préparation de l'antigène CS-50.



**ANNEXE 2: Valeurs de DO et résultats scanners des échantillons étudiés.**

Numéro échantillon	Valeurs de DO des échantillons								résultats scanner
	Sérum IgG	LCR IgG	Sérum IgE	LCR IgE	Sérum IgA	LCR IgA	Sérum IgD	LCR IgD	
1-3-10-4	0.278	0.089	0,271	0,082	0,923	0.090	0.247	0.065	1
1-3-10-6	0.399	0.041	0,149	0,071	0,551	0,087	0.168	0.062	0
1-3-10-22	0, 354	0.030	0,115	0,065	0,569	0,085	0.281	0.060	1
1-3-10-25	0.832	2.662	0,317	0,476	0,313	0.340	0.761	1.614	2
1-3-10-26	1.574	2.045	0,906	0,585	0,512	0,317	1.715	1.501	2
1-3-10-27	0.418	0.046	0,199	0.070	0,275	0.070	0.340	0.066	1
1-3-10-34	1.105		0,124	0,064	0,253	0,073	0.180	0.060	1
1-3-10-46	0.247	0.020	0,107	0,062	0,193	0,071	0.159	0.060	1
1-3-10-47	0.165	0.029	0,153	0,078	0,192	0,101	0.230	0.062	0
1-3-10-49	0.570	0.035	0,198	0,062	0,737	0,072	0.386	0.062	2
1-3-10-50	0.236	0.054	0,14	0,064	0,185	0,071	0.183	0.063	1
1-3-10-55	0.244	0.081	0,101	0,065	0,188	0,078	0.167	0.060	0
1-3-10-57	0.177	0.064	0,124	0,071	0,186	0,072	0.135	0.057	2
1-3-10-59	0.129		0,122	0,064	0,183	0,073	0.106	0.057	0
1-3-10-63	0.236	0,047	0,116	0,065	0,147	0,07	0.122	0.059	2
1-3-10-64	0.715	0.059	0,117	0,065	0,171	0,101	0.541	0.069	2
1-3-10-65	0.742	0.032	0,165	0,068	0,593	0,072	0.806	0.068	0
1-3-10-66	0.114	0.037	0,088	0,065	0,207	0,077	0.109	0.058	0
1-3-10-69	0.226	0.080	0,105	0,067	0,176	0,083	0.113	0.064	1
1-3-10-71	0.398	0.028	0,109	0,065	0.120	0,086	0.105	0.059	2
1-3-10-72	1.758	1.998	0,361	0,361	0.380	0.290	1.751	1.384	0
1-3-10-73	0.458	0.071	0.240	0,095	0,223	0,087	0.284	0.136	2
1-3-10-74	0.167	0.073	0,114	0,068	0,155	0,074	0.151	0.063	2

Numéro échantillon	Valeurs de DO des échantillons								résultats scanner
	Sérum IgG	LCR IgG	Sérum IgE	LCR IgE	Sérum IgA	LCR IgA	Sérum IgD	LCR IgD	
1-3-10-75	0,416	0.049	0,188	0.070	0,329	0,085	0.467	0.077	2
1-3-10-76	0,151	0.057	0,164	0.067	0,127	0,077	0.163	0.069	0
1-3-10-77	0,060	0.028	0,139	0.067	0,358	0,071	0.106	0.057	0
1-3-10-78	0,129	0.029	0,259	0.063	0,227	0,066	0.178	0.057	0
1-3-10-79	0,127	0.024	0,127	0.062	0,146	0,07	0.179	0.058	0
1-3-10-80	0,096	0.020	0,195	0.063	0,145	0.070	0.146	0.058	0
1-3-10-81	0,161	0.032	0,114	0.082	0,204	0,122	0.357	0.082	0
1-3-10-85	0,784	0.053	0,226	0.069	0,498	0,093	0.365	0.064	0
1-3-10-86	0,155	0.027	0,123	0.068	0,184	0,089	0.233	0.058	1
1-3-10-87	0,556	0.058	0,134	0.068	0,393	0,098	0.433	0.061	0
1-3-10-88			0.150	0.076	0,195	0,104	0.283	0.132	1
1-3-10-89	0,929	0.057	0,104	0.068	0,298	0,08	0.691	0.061	2
1-3-10-90	0,279	0.030	0,295	0.072	0,272	0,081	0.216	0.056	0
1-3-10-91	0.441	0.274	0,535	0,104	0,261	0,102	1.106	0.069	1
1-3-10-92	0.805	0.580	0,154	0.075	0,233	0.100	0.243	0.068	1
1-3-10-93	0,257		0,089	0.073	0,153	0,075	0.195	0.063	2
1-3-10-96	0.560	0.091	0,124	0.065	0,219	0,073	0.146	0.062	1
1-3-10-97	0.212	0.029	0,126	0.075	0,149	0,072	0.244	0.062	1
1-3-10-98	0,698	0,079	0,191	0.069	0,367	0,076	0.258	0.070	2
1-3-10-99	0,42		0,157	0,07	0,179	0,077	0.328	0.077	1
1-3-10-100	0,036		0,104	0.071	0,217	0,075	0.321	0.058	1
1-3-10-102	0,128	0,067	0,095	0.062	0,131	0.080	0.100	0.058	2
1-3-10-103	0,145	0,039	0,132	0.071	0.200	0,076	0.166	0.063	2
1-3-10-104	0,921	0,242	0,402	0.074	0,355	0,086	0.710	0.101	2
1.3.10.105	0,059	0.002	0,134	0.063	0,283	0,076	0.236	0.059	1

Numéro échantillon	Valeurs de DO des échantillons								résultats scanner
	Sérum IgG	LCR IgG	Sérum IgE	LCR IgE	Sérum IgA	LCR IgA	Sérum IgD	LCR IgD	
1.3.10.106	0.241	0.042	0,097	0,068	0,157	0,112	0.452	0.079	2
1.3.10.107	0.124	0.020	0,101	0,073	0,199	0,076	0.151	0.057	0
1.3.10.108	0,559	0,049	0,119	0,065	0,286	0,085	0.397	0.064	0
1.3.10.109	0.083	0,027	0,124	0,063	0,153	0,071	0.122	0.060	1
1.3.10.110	0.106	0,034	0.110	0,063	0,141	0,072	0.125	0.058	1
1.3.10.111	0.376	0,052	0,393	0,103	0,672	0,127	0.350	0.389	2
1.3.10.112	0.235	0,034	0,359	0,067	0,281	0,075	1.011	0.059	2
1.3.10.113	0.924	1,398	0,359	0.210	0,279	0,223	1.158	0.705	0
1.3.10.114	0.088	0,008	0,163	0,067	0,246	0,078	0.304	0.072	0
1.3.10.115	0.250	0,054	0,111	0,068	0,351	0,089	0.174	0.076	2
1.3.10.116	0.103	0,013	0,115	0,063	0.680	0,085	0.158	0.058	2
1.3.10.117	0.150	0,195	0,146	0,066	0,226	0,074	0.155	0.091	2
1.3.10.119	0.114	0,027	0,109	0,071	0,139	0,085	0.120	0.058	2
1.3.10.120	0, 062	0.002	0,111	0,067	0,166	0,074	0.135	0.062	0
1.3.10.121	0, 146	0.003	0,157	0,066	0,538	0,070	0.274	0.063	2
1.3.10.122	0, 266	0.046	0,151	0,071	0,392	0,079	0.552	0.064	2
1.3.10.123	0, 026	0.003	0,108	0,073	0,113	0,066	0.184	0.059	0
1-3-10-126	0,316	0,08	0,162	0,068	0,441	0,073	0.316	0.065	2
1-3-10-127	0,294	0,02	0,425	0,071	0,317	0,068	0.351	0.061	0
1-3-10-128	0,06	0,005	0,128	0,068	0.180	0,067	0.162	0.058	1
1-3-10-129	0,191	0,042	0,098	0,069	0,215	0,072	0.186	0.060	0
1-3-10-130	0,271	0,018	0,363	0,073	0,405	0,075	0.372	0.066	2
1-3-10-131	0,071	0,012	0,126	0,072	0,216	0,074	0.166	0.059	1
1-3-10-132	0,083	0,008	0,111	0,068	0,269	0,070	0.120	0.057	1
1-3-10-133	0,435	0,034	0,192	0,073	0,173	0,074	0.500	0.078	2

Numéro échantillon	Valeurs de DO des échantillons								résultats scanner
	Sérum IgG	LCR IgG	Sérum IgE	LCR IgE	Sérum IgA	LCR IgA	Sérum IgD	LCR IgD	
1-3-10-134	0,063	0,006	0.110	0,065	0.220	0,074	0.217	0.059	1
1-3-10-135	0,07	0,024	0,126	0,065	0,175	0.070	0.151	0.057	0
1-3-10-136	0,049	0,016	0,173	0,068	0,133	0,073	0.101	0.057	1
1-3-10-137	0,224	0,039	0,149	0,066	0,148	0,076	0.157	0.063	0
1-3-10-138	0,211	0,019	0,289	0,065	0,242	0,074	0.245	0.062	1
1-3-10-139	0,11	0,013	0,159	0,069	0,378	0,107	0.291	0.056	2
1-3-10-140	0,051	0,033	0,162	0,064	0,572	0,073	0.114	0.054	1

**résultats scannes:**

- 0: scanner normal à la cysticerose
- 1: scanner douteux à la cysticerose
- 2: scanner positif à la cysticerose



**Author: RAMANDANIRAINY Prisca Annick**

**Title: STUDY OF CLASSES OF IMMUNOGLOBULINS E, A, D IN HUMAN CYSTICERCOSIS**

#### **ABSTRACT**

The serologic diagnosis of the cysticercosis existing in Madagascar is based only on the detection of the IgG. So, we have planned to carry out biologic tests aiming to evaluate the different human isotypes (IgE, IgA, IgD) directed against *Cysticercus cellulosae* and the performances of the ELISA technique.

We used the CS-50 antigen, extracted from *Cysticercus cellulosae* in order to quantify the rates of these isotypes in the sera and the cerebrospinal fluid (CSF). After the protocols set-up, 80 patients presenting neurocysticercosis symptoms from the Neurology Service of the Raseta Hospital of Befelatanana were included in this study.

It was observed higher rates of the IgD compared to the other two classes (IgA and IgE) in the sera and IgA compared to IgD and IgE in the CSF. For each class of studied Ig, ELISA test performance is low enough compared to ELISA IgG test was well in the sera than in the CSF.

**Key words:** *Cysticercus cellulosae*, cysticercosis, ELISA, IgE, IgA, IgD.

**Advisors:** Docteur RAZAFIARIMANGA Zara

Docteur RAMAROSON Roseline

**Nom: RAMANDANIRAINY**

**Prénoms: Prisca Annick**

**Titre: ETUDE DES SOUS CLASSES D'IMMUNOGLOBULINES E, A, D DANS LA CYSTICERCOSIS HUMAINE.**

### **RESUME**

Le diagnostic sérologique de la cysticercose existant à Madagascar est seulement basé sur la détection des IgG. Ainsi nous avons envisagé de réaliser des tests biologiques qui visent à doser les différents isotypes (IgE, IgA, IgD) humains dirigés contre *Cysticercus cellulosae* et à évaluer les performances de la technique ELISA.

Nous avons utilisé l'antigène CS-50, extrait des cysticerques afin de quantifier les taux de ces isotypes dans le sérum et dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Après la mise au point des protocoles, 80 patients présentant des symptômes de la neurocysticercose, consultés ou hospitalisés au sein du service de neurologie de l'hôpital Raseta Befelatanana, ont été inclus dans cette étude.

Les résultats obtenus ont montré des taux plus élevés des IgD par rapport aux deux autres classes (IgA, IgE) dans le sérum et IgA par rapport aux IgD et IgE dans le LCR. La performance du test ELISA mis au point pour chaque classe d'Ig étudié est assez faible aussi bien dans le sérum que dans le LCR par rapport au test ELISA IgG.

**Mots clés:** *Cysticercus cellulosae*, cysticercose, ELISA, IgE, IgA, IgD.

**Rapporteurs:** Docteur RAZAFIARIMANGA Zara

Docteur RAMAROSON Roseline