



HAL
open science

Sérologie de la toxocarose : intérêt du dosage en parallèle des Ig G et Ig E spécifiques

Véronique Chamel Mossuz

► To cite this version:

Véronique Chamel Mossuz. Sérologie de la toxocarose : intérêt du dosage en parallèle des Ig G et Ig E spécifiques. Sciences pharmaceutiques. 1995. <dumas-01868555>

HAL Id: dumas-01868555

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01868555v1>

Submitted on 5 Sep 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



115 016833 5

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER - GRENOBLE I
SCIENCES, TECHNOLOGIE, MEDECINE

U.F.R. de PHARMACIE

Année 1995

N d'ordre

7012

**Sérologie de la TOXOCAROSE :
Intérêt du dosage en parallèle des Ig G et
Ig E spécifiques**

MEMOIRE

du diplôme d'études spécialisées de biologie médicale

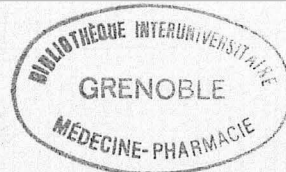
Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988, tient lieu de

THESE

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

CHAMEL Véronique épouse MOSSUZ

[Données à caractère personnel]



Soutenu publiquement le 4 avril 1995 à 18 heures

DEVANT LE JURY COMPOSE DE :

Président : Madame le Professeur Renée Grillot

Membres : Monsieur le Professeur Max Micoud

Madame le Docteur Brigitte Gonzalvez

Monsieur le Docteur Stéphane Picot

A mes parents

A ma soeur Laurence

A Pascal

A Damien

A tous mes amis

A notre Présidente de thèse

Madame le Professeur R. Grillot

C'est elle qui nous a enseigné et fait aimer la parasitologie tout au long de nos études. Elle nous fait maintenant l'honneur de présider cette thèse. Qu'il nous soit permis de lui témoigner notre reconnaissance et notre respectueuse considération.

Aux membres du Jury

Monsieur le Professeur M. Micoud

Nous sommes très honorés qu'il ait accepté de juger ce travail et nous lui en sommes très reconnaissants. Nous le remercions et le prions de croire en notre profond respect

Madame le Docteur B. Gonzalvez

Nous la remercions de nous avoir réservé un très bon accueil dans le service d'Ophtalmologie, et de l'intérêt qu'elle a manifesté pour ce travail.
Qu'elle soit assurée de notre grande estime.

Monsieur le Docteur S. Picot

Il a suivi et dirigé ce travail. Nous tenons à le remercier pour son aide précieuse. Nous avons beaucoup apprécié sa patience et sa très grande gentillesse.

A Laurence Coeur, Laurence Perrin et Catherine Barois avec qui nous avons travaillé, qui nous ont fait bénéficier de leur expérience et qui nous ont apporté tout leur soutien et leur gentillesse.

A l'ensemble du personnel du service de Parasitologie, pour qui nous avons beaucoup de sympathie, et dont nous garderons un très bon souvenir.

A tout ceux qui ont passé un peu de leur temps pour ce mémoire

Plan

Introduction

Synthèse bibliographique

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

Résultats

Discussion

Conclusion

Annexes

Glossaire

Bibliographie

Table des matières

Introduction

Introduction

La toxocarose est une zoonose cosmopolite due à la migration prolongée dans l'organisme humain de larves infestantes de *Toxocara canis*, parasite habituel du jeune chien. Souvent bien tolérée, la présence de ces larves peut néanmoins engendrer deux types d'entités clinico-biologiques distinctes : le syndrome de larva migrans viscérale, présentant une sémiologie très vaste et atypique et le syndrome de larva migrans oculaire, caractérisé par sa gravité.

Cette parasitose pose des problèmes à la fois diagnostiques et thérapeutiques. Notamment il n'existe pas de diagnostic de certitude : on ne retrouve dans les différents prélèvements ni larves, ni oeufs, ni vers adultes. Seule la sérologie apporte des éléments d'information et doit être confrontée à la biologie non spécifique.

Nous avons mis au point et évalué une méthode ELISA pour la détection des Ig E spécifiques. Après avoir établi sa valeur seuil, nous avons montré que cette technique n'était pas corrélée au dosage des Ig G spécifiques, mais en revanche elle est plus discriminante pour le diagnostic de la toxocarose en permettant de différencier infection aiguë et infection ancienne. Le dosage des Ig E spécifiques est donc un élément important du diagnostic positif de toxocarose en cours.

*Synthèse
bibliographique*

I. LE PARASITE

I.1 Présentation du parasite

La toxocarose est une nématodose due à la présence chez l'homme de stades larvaires de *Toxocara canis*, ascaris du chien ou plus rarement d'ascaris d'autres animaux. En effet les larves d'Ascaridés animales pouvant déterminer chez l'homme des cas de larva-migrans sont nombreuses : *Toxocara canis* (chien), *Toxocara cati* (chat), *Ascaris suum* (porc), *Ascaris equorum* (équidés), *Neoascaris vitulorum* (bovidés). De toutes ces espèces évoquées, l'ascaris du chien semble toutefois être le plus souvent en cause.

I.2 *Toxocara canis* et son cycle

Toxocara canis est un parasite qui vit à l'état adulte dans l'intestin grêle du chien, qui est l'hôte normal et définitif. Les ascaridés vivent librement dans la cavité intestinale où ils se nourrissent du chyme. Les vers mâles et les vers femelles s'y accouplent. L'espèce est particulièrement prolifique. La femelle pond jusqu'à 200 000 oeufs par jour, non embryonnés, donc non infectieux, qui sont libérés sur le sol par les fèces. L'embryonnement jusqu'au stade infectieux demande 10 à 20 jours si les conditions sont optimales : température comprise entre 15° et 25° C et hygrométrie 85 %. Ces oeufs sont résistants et peuvent survivre dans le sol au moins 2 ans (51).

L'infestation des chiens peut se faire de plusieurs manières qui dépendent principalement de l'âge. Le mode de contamination principal est la voie transplacentaire. Les chiots naissent donc avec des parasites adultes dans le tube digestif. La transmission peut également se faire chez le nouveau-né par le lait. Les chiens s'infestent aussi en ingérant les oeufs présents dans le milieu extérieur, ou en dévorant des hôtes paraténiques (rongeurs, oiseaux) porteurs de larves de *Toxocara canis* (1, 21, 44, 80).

I.3 Le réservoir de parasites

La population d'animaux de compagnie est en augmentation constante dans les pays industrialisés et dépasse pour les chiens 55 millions aux Etats-Unis et 7,8 millions en Grande-Bretagne. En France il y aurait environ 9 millions de chiens et 10 millions de chats (23, 62).

La prévalence des chiens parasités par *Toxocara canis* est variable selon le mode de diagnostic (coprologie, nécropsie) et l'âge des animaux.

Elle est en France de plus de 90 % chez les chiots et de 25 % chez les chiens adultes. Cette endozootie entraîne une importante contamination du sol et des endroits fréquentés par les chiens : parcs publics, jardins privés, aires de jeux, bacs à sable, plages...

La proportion d'échantillons positifs va de 0 % en Australie, où de nombreux parcs et plages sont strictement interdits aux chiens, à 12 % dans les places publiques iraqiennes (57), 66% dans les parcs de Londres, 77 % dans les jardins publics parisiens et à 87 % dans les bacs à sable de Francfort (47).

Une étude réalisée en 1990 dans l'agglomération grenobloise montre une contamination de 12 % de 50 bacs à sable (68).

I.4 Contamination humaine

La contamination humaine s'effectue principalement par ingestion d'oeufs de *Toxocara*, contenant des larves infestantes, présentes dans la terre, l'eau ou les aliments souillés par des déjections d'animaux porteurs des stades adultes. Ce sont fréquemment les enfants géophages (phénomène de pica) ou jouant dans les bacs à sables souillés qui vont se contaminer. Mais la contamination est également possible chez les personnes vivant en promiscuité avec des animaux, ou en zone rurale : elle peut se contracter en consommant des légumes provenant de jardins souillés, par l'intermédiaire des mains sales, après contact avec de la terre, en manipulant des récipients destinés aux animaux de compagnie, en nettoyant sans précaution des niches ou chenils.

Il faut noter l'existence d'une voie alimentaire probablement sous évaluée, par absorption de larves présentes dans les viandes de boucherie, hôtes paraténiques potentiels. Il a ainsi été décrit des toxocaroses chez des personnes ayant consommé des abâts crus ou peu cuits d'agneau (75), de lapin (88), ou de poulet (60). A l'école vétérinaire de Toulouse, la séroprévalence de la toxocarose était significativement plus élevée chez les étudiants consommant du foie de veau ou d'agneau cru ou peu cuit (47).

Un cas a même été décrit de contamination par ingestion d'escargots crus en prévention de l'ulcère d'estomac (remède espagnol traditionnel !) (74).

Le contact direct avec des chiens infestés est un phénomène secondaire dans la transmission en raison de l'incubation prolongée nécessaire à l'embryonnement des oeufs. Les divers modes de contamination expliquent que l'infection par *Toxocara canis* puisse s'exprimer par des cas sporadiques, sous forme d'épidémie familiale ou au sein d'une collectivité d'enfants. Ceci justifie l'étude des personnes proches du cas index, ainsi que l'examen des selles du chien domestique ou plus aisément son traitement d'emblée par un antihelminthique.

II . EPIDEMIOLOGIE

II.1 Facteurs de risque

Tableau 1 : Facteurs de risque reconnus pour la toxocarose

Risques liés à l'hôte	Risques liés à l'environnement
<p>LMO enfants / adolescents pica (géophagie)</p>	<p>LMO présence intradomiciliaire de chiots : sol contaminé par des oeufs de <i>T.canis</i></p>
<p>LMV enfants pica</p>	<p>LMV milieu défavorisé milieu rural présence intradomiciliaire de chiots : sol contaminé par les oeufs de <i>T. canis</i> consommation de foie cru ou peu cuit</p>

d'après Glickman (23)

D'après ce tableau on remarque que les facteurs de risque sont très voisins entre les deux types de larva-migrans.

Un retard mental nécessitant le placement dans une institution spécialisée constitue également un facteur de risque (35).

II.2 Séroprévalence

La mise au point en 1979 d'un sérodiagnostic sensible et spécifique par une méthode ELISA, a permis la réalisation de nombreuses enquêtes séroépidémiologiques à travers le monde. La toxocarose est certainement à l'heure actuelle l'une des helminthiases la plus commune dans les pays industrialisés et probablement aussi dans les pays en voie de développement.

Il faut noter toutefois la grande disparité entre les taux élevés de contamination retrouvés dans certains pays et la rareté des symptômes associés.

En France, des études récentes donnent une séroprévalence d'environ 4,4 % (étude sur 391 témoins adultes normaux) (63). Des chiffres plus élevés ont été trouvés dans le cadre d'études réalisées dans certaines régions ; en particulier, 37 % dans la région de Saint Gaudens (53), 20,3 % dans la région grenobloise (68), et font discuter l'existence de zone d'endémie en France .

Des études ont été réalisées dans d'autres pays et donnent des chiffres de :

- 2,7 % en Suisse (étude sur 1000 sujets sains adultes et enfants) (37),
- 4,6 à 7,3 % aux USA (78),
- 3,6 % au Japon,
- 2,6 % en Grande Bretagne (étude portant sur 922 donneurs de sang asymptomatiques)
- 7,1 % en Hollande (dépistage sur un groupe de 122 enfants d'âge scolaire) (23).

En milieu tropical des chiffres de 86 % ont été trouvés chez l'enfant dans l'île de Sainte Lucie et de 92,8 % chez l'adulte dans l'île de la Réunion (étude par Western-Blot de 387 adultes) (54).

Il est toutefois important de souligner que les critères de positivité sont assez différents dans chaque étude rendant les taux peu comparables.

Il existe une discordance importante entre le pourcentage relativement élevé de sujets ayant des taux sérologiques significatifs et l'incidence, à vrai dire faible, des cas d'infection-maladie. De plus il existe des formes mineures dont l'individualisation diagnostique reste par ailleurs difficile.

II.3 Prévalence de la toxocarose oculaire

La prévalence de la toxocarose oculaire est peu documentée.

C'est le travail de Wilder, anatomopathologiste, qui a permis l'individualisation du syndrome de larva-migrans oculaire (LMO). Sur 46 globes oculaires énucléés pour rétinoblastome, 26 révélèrent la présence de larves de *Toxocara* ou de débris larvaires (96). Le nombre de cas mondiaux recensés était de 430 en 1979 (16). Une étude d'une durée de 18 mois, en 1979, montre que 37 % des atteintes rétinienne chez l'enfant sont dues à *Toxocara* (69).

Une étude rétrospective portant sur 5 années auprès d'ophtalmologistes en Alabama, a permis une évaluation de la prévalence de la toxocarose oculaire à 1 cas pour 1000 de la population générale et 11 cas pour 1000 de la population ayant eu un fond d'oeil (58).

II.4 Caractères épidémiologiques particuliers des LMO

Les caractères épidémiologiques des LMO diffèrent de ceux identifiés pour les larva-migrans viscérales (LMV). En effet on constate une charge parasitaire inférieure, un âge moyen de survenue supérieur, des modalités d'infection différentes (pas d'histoire de géophagie en général) et une sorte de chimiotactisme larvaire pour l'oeil.

Pour Hotez (34), la VLM est une maladie des tous jeunes enfants (1 à 4 ans). En revanche la LMO est plus courante chez des enfants de 5 à 10 ans.

A l'inverse, sur une étude bibliographique de 184 cas de LMO, Petithory (66) rapporte une plus grande fréquence d'atteintes oculaires par rapport aux atteintes viscérales chez les jeunes enfants.

Ces contradictions soulignent que l'épidémiologie est encore mal connue.

III. PHYSIOPATHOLOGIE

Les oeufs de *Toxocara canis* ingérés par l'homme éclosent dans le haut intestin grêle. Après avoir traversé la paroi intestinale, les larves migrent vers le foie puis atteignent le coeur, les poumons et la grande circulation. Elles seront distribuées dans les tissus et les viscères.

Les symptômes dus à cette parasitose sont causés successivement par des phénomènes mécaniques (altération cellulaire et tissulaire engendrée par la présence des larves) et par la réponse immunitaire à cette agression. Comme pour les autres helminthiases, la réponse immunitaire à l'infection par *Toxocara* est caractérisée par une hypergammaglobulinémie, concernant les IgE en particulier, et une hyperéosinophilie. Les mécanismes responsables de la production d'IgE en réponse aux antigènes parasitaires ainsi que ceux impliqués dans l'augmentation et l'activation des éosinophiles font encore l'objet d'études.

Les antigènes Excrétés-Sécrétés (ES) stimulent les lymphocytes T Helpers Th2 qui produisent des cytokines, l'interleukine 4 (IL4) et l'interleukine 5 (IL5) (11, 40, 98). L'IL4 stimule la production d'IgE par les lymphocytes B, l'IL5 la prolifération et l'activation des éosinophiles. Les éosinophiles sont capables de tuer ou d'entraîner des dommages importants chez les parasites hébergés dans les tissus. Ces lésions parasitaires sont attribuées aux effets de protéines cytotoxiques sécrétées par les éosinophiles : ils sont en effet équipés de 4 protéines cationiques, la protéine basique majeure (MBP), la protéine cationique éosinophile (ECP), la peroxydase éosinophile (EPO), et la neurotoxine dérivée des éosinophiles (EDN ou EPX), stockées dans des granules cristalloïdes. Ces médiateurs sont potentiellement helminthotoxiques (77).

Le syndrome de LMO survient lorsqu'une larve de *Toxocara canis* pénètre l'oeil par la voie des vaisseaux rétiniens. Son diamètre de 18 à 21 μm explique la prédilection avec laquelle le parasite va se bloquer dans les vaisseaux de la région maculaire ou de la périphérie de la rétine dont le diamètre est inférieur. La pathogénie de cette atteinte résulte de la destruction tissulaire produite par la migration de la larve et de la réponse inflammatoire de l'hôte au parasite ou à ses produits métaboliques (72).

Les différences cliniques et épidémiologiques entre LMV et LMO suggèrent un mécanisme physiopathologique différent.

Selon Glickmann et Shantz (26), le type d'atteinte, viscérale ou oculaire, serait fonction de la dose d'oeufs ingérés et de la résistance de l'hôte à l'agression parasitaire.

Ainsi une faible dose entrainerait une LMO (la migration de quelques larves seulement provoquant peu de réaction générale ne favoriserait pas l'enkystement), une forte dose, une LMV et une très forte dose l'association rare LMV et LMO rencontrée généralement chez les tous jeunes enfants (1 à 2 ans) où les larves inondent brusquement un organisme jeune non préalablement sensibilisé.

Ceci pourrait expliquer pourquoi la plupart des enfants présentant une LMV ont une histoire de pica et d'exposition aux chiots, probablement responsables d'un contact avec un grand nombre d'oeufs de *Toxocara*. En revanche les patients atteints d'une LMO sont plus âgés avec absence de signes systémiques et de pica. Chez ces personnes, l'infection avec uniquement une petite quantité d'oeufs est plus fréquente. Ceci pourrait également expliquer pourquoi les titres en anticorps sont souvent plus bas chez les personnes ayant une LMO par rapport à ceux ayant une LMV.

Pour Scaglia (76), dans le syndrome de LMO, la charge immunitaire, faible, serait insuffisante pour provoquer une réponse immunitaire valable de l'hôte : de cette façon le parasite pourrait plus facilement migrer dans l'organisme ; les petites quantités d'antigène circulant détectés dans la plupart des cas de LMO stimuleraient davantage la production d'anticorps spécifiques IgE plutôt qu'IgG (20, 25).

La présence d'IgE au niveau de l'humeur aqueuse ne semblerait pas uniquement imputable à des phénomènes de diffusion, mais plutôt à leur production *in situ* par les plasmocytes choroïdaux, après stimulation par les antigènes parasitaires (8, 7, 33).

IV . CLINIQUE

Les larves de *Toxocara* sont capables d'envahir la plupart des structures de l'oeil. Les conséquences peuvent être graves, liées surtout à la mise en place d'une réaction inflammatoire importante.

IV.1 Signes d'appel

C'est dans la majorité des cas une baisse de l'acuité visuelle (84 % des cas) qui conduit à consulter. Chez le jeune enfant, elle peut être difficile à diagnostiquer et est parfois révélée de façon fortuite au cours d'un examen scolaire (5, 65, 69, 97).

La lésion est en général unilatérale. Toutefois certains auteurs ont décrit une atteinte bilatérale dans 1 à 3 % des cas (15, 38, 39).

Il peut également s'agir d'un strabisme ou d'une leucocorie, plus rarement d'un hypopion. La lésion est en général peu ou pas douloureuse mais la photophobie est assez fréquente.

IV.2 Les atteintes de l'oeil

L'examen à l'ophtalmoscope permet de préciser la nature et le siège des lésions. Trois tableaux cliniques sont décrits (31, 79, 95, 100, 101):

IV.2.1 Le granulome

Le plus souvent situé au pôle postérieur, il entraîne une destruction et une désorganisation profonde de la région maculaire ou interpapillomaculaire.

Il peut être périphérique, il prédomine alors dans les quadrants inférieurs et temporaux, unique ou associé à d'autres granulomes, notamment du pôle postérieur. Quelque soit sa localisation, l'aspect de la lésion est toujours le même : sa taille varie d'un demi à quatre disques optiques, rarement plus, elle est de forme arrondie, saillante, bien limitée, de couleur blanche, grisée ou jaunâtre. Fréquemment, on partent des plis rétinien radiés, en particulier vers le disque optique. Des hémorragies rétinien peuvent se produire ainsi que des décollements de rétine (7, 12, 94).



IV.2.2 L'uvéite chronique

Elle représente une réaction uvéale à la présence de la larve dans le vitré ou sur la rétine. Elle associe une inflammation du vitré et de la rétine. Derrière un cristallin clair, le vitré est plus ou moins trouble, parfois totalement opaque avec présence de cellules inflammatoires. Il existe souvent un décollement de la rétine. Les formes sévères évoluent vers le glaucome ou la microphthalmie avec cécité complète.

Il peut exister également une inflammation chronique de la rétine périphérique et du corps ciliaire de type uvéite intermédiaire ou pars planite (larve morte découverte dans des exsudats en banquise).

IV.2.3 L'endophtalmie diffuse

Plus rare, elle se manifeste cliniquement par une leucocorie partielle ou totale. L'examen trouve une masse blanchâtre irrégulière, vascularisée, derrière le cristallin, au pôle postérieur ou en périphérie, avec un vitré en voie d'organisation.

Des vaisseaux courent à la surface de la lésion, l'ensemble évoquant un rétinoblastome. Le vitré est trouble (hyalite) empêchant de bien voir le fond d'oeil. Le développement de la masse toxocarienne tend à envahir le vitré en avant et le décolle en arrière par traction.

Les coupes histologiques de la masse montrent une larve entourée de polynucléaires et d'éosinophiles. Pour certains auteurs, granulome et endophtalmie seraient deux formes différentes de la même maladie liées à des sensibilités tissulaires différentes et à une résistance plus ou moins marquée. Pour d'autres, l'endophtalmie chronique serait la conséquence du développement du granulome rétinien qui aboutit à la libération de la larve de *Toxocara canis* dans le vitré.

IV.2.4 autres formes cliniques

Elles sont plus rares. D'autres localisations ont été décrites au niveau:

- de la cornée avec présence d'une larve mobile
- du corps ciliaire
- du cristallin
- de l'iris

Fond d'oeil d'une lésion typique due à la toxocarose

Photo 1 : avant traitement

Photo 2 : après traitement

Photo 1

Photo 2

V . DIAGNOSTIC

V.1 Diagnostic biologique

Le diagnostic d'une LMO est encore plus délicat que celui d'une LMV : les signes cliniques sont purement oculaires et se distinguent difficilement des autres atteintes oculaires infantiles. Les examens biologiques sont souvent dans des limites normales et un certain nombre de cas, avec des lésions inflammatoires bénignes dues à *Toxocara canis* ont été inutilement énucléés car étiquetés rétinoblastome.

Deux types de prélèvement devront être réalisés

- prélèvement sanguin

- prélèvement de liquide endoculaire :

- prélèvement d'humeur aqueuse : Il se fait sous anesthésie locale, ou générale chez l'enfant , par ponction de la chambre antérieure de l'oeil. On recueille 100 µl à 150 µl d'humeur aqueuse, quantité suffisante en microméthode.

Les risques liés à ce prélèvement sont essentiellement d'ordre infectieux, parfois il peut provoquer une hémorragie de la chambre antérieure de résolution rapidement spontanée.

On peut également disposer de liquide de vitrectomie recueilli lors d'un traitement par vitrectomie ou par ponction.

V.1.1 sérum

a Hyperéosinophilie sanguine

Importante dans les cas de toxocarose viscérale, elle est modérée dans les cas de toxocarose oculaire et son taux varie en général de 200 à 1000 éléments / mm³. L'absence d'hyperéosinophilie ne doit pas faire rejeter le diagnostic car il existe des cas patents de larves de *Toxocara canis* dans l'oeil avec une éosinophilie normale. En l'absence d'autres nématodoses ou d'un contexte allergique, l'existence d'une hyperéosinophilie représente pourtant un argument en faveur du diagnostic.

b sérologie spécifique

Elle permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques de *Toxocara canis*. Toutefois cette sérologie spécifique ne présente que peu d'intérêt dans les LMO (81, 85, 89). Le titre sérologique est significativement plus bas chez les patients avec une LMO que ceux ayant une LMV (elle serait négative dans 45% des cas de LMO). De plus la séroprévalence élevée laisse la possibilité que des enfants avec une toxocarose asymptomatique et un désordre

oculaire inflammatoire non associé à *Toxocara canis* (comme le rétinoblastome), soient faussement étiquetés LMO.

Différentes techniques sont réalisables:

- Dosage des Ig G spécifiques par ELISA

Cette technique est utilisée au laboratoire de Parasitologie de Grenoble. Elle est sensible et spécifique, facile à mettre en oeuvre.

Un des problèmes est qu'il n'existe pas de standards permettant une conversion en unité internationale (UI). De plus une zone limite rend l'interprétation délicate et impose de prendre en compte d'autres paramètres en particulier le taux d'éosinophiles sanguins.

- Méthodes de précipitation en milieu gélifié (67)

Différentes méthodes utilisant la précipitation des complexes antigènes-anticorps en milieu gélifié sont réalisées : technique d'Ouchterlony, d'électrosynérèse, et d'immunoélectrophorèse.

Pour Petithory la présence ou l'absence d'un arc de précipitation ne pose pas le problème de la valeur seuil de l'ELISA, donc technique plus spécifique mais plus longue et plus lourde à mettre en oeuvre.

- Western Blot (48)

Les antigènes TES sont séparés par une électrophorèse en gel de polyacrylamide. Ils sont ensuite transférés sur une feuille de nitrocellulose. Celle-ci est découpée en bandelettes, mises à incuber avec le sérum des patients. La révélation par une antiglobuline humaine met en évidence une coloration de certaines ou de la totalité des bandes antigéniques sur lesquelles se sont fixés les éventuels anticorps.

Il s'agit d'un test de confirmation dans lequel les positivités intéressant les protéines de bas poids moléculaires sont spécifiques de la toxocarose.

Il est peu utilisé.

- Dosage des IgE spécifiques (9, 49)

Il est proposé du fait de la grande fréquence des manifestations allergiques chez les patients atteints de toxocarose.

Ce test serait un complément utile du dosage des Ig G spécifiques, certains sérums de sujets suspects de toxocarose ne contenant que des IgE antitoxocara.

Ce test pourrait présenter également un intérêt dans la toxocarose oculaire (19).

V.1.2 Humeur aqueuse

a étude immunologique

Etant donnée l'impasse de la sérologie spécifique dans les cas de LMO, un prélèvement d'humeur aqueuse s'impose. Sur cette humeur aqueuse sont réalisés un dosage d'anticorps spécifiques (Ac sp.HA) et un dosage des Immunoglobulines totales (Ig HA). On peut ainsi calculer le coefficient de Desmonts-Goldmann défini par :

$$DG = (Ac \text{ sp.HA} / Ig \text{ HA}) / (Ac \text{ sp.sérum} / Ig \text{ sérum})$$

Ce coefficient reflète la charge immunitaire et permet de savoir s'il existe une synthèse locale d'anticorps ou non (on admet qu'il existe une synthèse locale d'anticorps quand le rapport de DG est supérieur ou égal à 4)

Cette étude est actuellement un élément clé du diagnostic (24, 28).

b étude cytologique

L'étude cytologique des milieux aqueux de l'oeil peut révéler la présence d'éosinophiles en faveur d'une LMO.

La première observation est celle d'Appelmans (2) qui rapporte un cas d'uvéite avec hypopion à éosinophiles par larves de nématodes.

Cette éosinophilie locale a été également constatée dans le vitré.

Liotet (43) a réalisé une étude comparative sur les modifications biologiques dans le vitré de patients ayant une parasitose intra-oculaire. Après cyto-centrifugation et coloration au May Grunwald Giemsa, l'examen microscopique du vitré montre :

- pour les yeux témoins obtenus sur des cadavres, uniquement des cellules mononuclées appelées hyalocytes
- dans le cas de toxocarose, une réaction lymphocytaire et éosinophile
- dans le cas de toxoplasmose, une réaction lymphocytaire.

L'éosinophilie représente un argument majeur contre le diagnostic de rétinoblastome et en faveur d'une LMO, mais elle n'est pas spécifique et peut s'observer dans d'autres helminthiases oculaires ou dans les manifestations allergiques.

c étude enzymologique (64, 66)

- La lactate-deshydrogénase (LDH)

Un rapport (LDH humeur aqueuse / LDH sérum) inférieur à 1 est un argument en faveur d'une atteinte parasitaire de l'oeil mais non spécifique de la toxocarose.

Un même type de calcul concernant la phosphoglucose isomérase (PGIs) permet d'avoir une orientation:

PGIs HA / PGIs sérum inférieur à 2 est en faveur d'une atteinte parasitaire.

Ces différents dosages sont difficilement cumulables sur un même prélèvement d'humeur aqueuse à cause du faible volume disponible.

V.2 Imagerie

V.2.1 Echographie

D'après Lee Wan et coll.(42) on retrouverait à l'échographie chez des patients atteints de toxocarose oculaire dans les formes typiques évoluées une triade de signes :

- 1-une masse périphérique ou centrale solide hautement réfléchive
- 2-une bande vitrénne ou membrane étendue entre le pôle postérieur et la masse
- 3-un détachement par traction de la rétine ou repli du pôle postérieur à la masse.

Cette technique serait intéressante en particulier dans les cas d'existence d'une leucocorie ou d'une inflammation du vitré, pour lesquelles une lésion parasitaire peut être suspectée, gêne l'examen à l'ophtalmoscope.

En effet, ces caractéristiques échographiques diffèrent le plus souvent de celles présentées par un rétinoblastome ou d'autres maladies pouvant se manifester par une leucocorie (en particulier dans le rétinoblastome, la membrane vitrénne associée à un détachement de la rétine ne se rencontre pas).

Associée à l'examen clinique et aux paramètres biologiques, l'échographie peut être utile pour établir le diagnostic de toxocarose ou pour le suivi de ces patients.

V.2.2 Angiographie rétinienne

Diallo et coll. (12") signalent que le granulome donne à l'angiographie une hyperfluorescence avec imprégnation tardive et importante, avec une zone centrale très fortement imprégnée, une zone moyenne et une zone périphérique claires à bords plus ou moins réguliers.

D'autres auteurs (46) retrouvent de nombreux vaisseaux dilatés sur le granulome et les brides rétino-vitrénnes (vascularite fréquente).

V.3 Diagnostic de certitude = étude histopathologique

V.3.1 Les lésions

Les énucléations pratiquées ont toujours permis de retrouver soit un granulome soit un abcès à polynucléaires éosinophiles, voisin de ce qui est trouvé dans de nombreuses helminthiases tissulaires.

Le centre du granulome est occupé par une zone de nécrose plus ou moins étendue. Il est entouré de cellules épithélioïdes pouvant être disposées en palissades avec parfois des cellules géantes. Le tissu de granulation inflammatoire comprend des polynucléaires surtout éosinophiles, des lymphocytes, des plasmocytes souvent plurinucléés.

Ce granulome siège sous la rétine, dans les plis rétiniens, dans la choroïde, il peut être multiple. En revanche il n'a jamais été décrit plus d'une larve par oeil.

L'évolution se fait vers la fibrose sans calcification (66).

V.3.2 Le diagnostic d'espèce de larves

Il est extrêmement difficile et ne présente pas d'intérêt.

La larve de *Toxocara canis* en coupe transversale ne mesure que 20 µm. Les larves d'ascaridés ont une morphologie assez voisine les unes des autres et leurs caractéristiques en coupe histologique souvent difficiles à voir. Enfin les larves mortes sont plus ou moins dégénérées et ne sont plus identifiables (59).

Les larves de *Toxocara canis* et *Toxocara cati* n'évoluent pas chez l'homme et gardent donc les mêmes dimensions. Toutes les deux présentent des crêtes alaires latérales. En coupe histologique, seules des sections passant au niveau de l'intestin moyen permettent le diagnostic différentiel entre ces deux espèces.

V.4 Diagnostic différentiel

V.4.1 Le rétinoblastome

Chez le jeune enfant, le diagnostic différentiel se pose surtout avec le rétinoblastome et ceci afin d'éviter des énucléations injustifiées (14, 93).

Aussi longtemps qu'il n'existait pas d'arme thérapeutique efficace, ni de test diagnostique fiable pour cette parasitose oculaire, le fait d'énucléer un oeil suspect de rétinoblastome, pour lequel l'examen anatomopathologique révélait par la suite une lésion non tumorale, causée par *Toxocara canis*, était moins gênant. Aujourd'hui des auteurs rapportent des résultats fonctionnels appréciables après traitement chirurgical. Cependant il

ne faut pas oublier que la mortalité du rétinoblastome non traité est de 95 % à 100 % contre une survie de 70 % à 5 ans avec un traitement adéquat.

L'âge du patient est un élément important de différenciation car même s'il y a recouvrement des distributions des âges des 2 affections, la toxocarose est exceptionnelle avant l'âge de 2 ans. Le rétinoblastome est dans la grande majorité des cas mis en évidence avant l'âge de 5 ans et avant l'âge de 1 an dans 30 % des cas.

Un des premiers signes est la leucocorie. La chambre antérieure intacte et le décollement rétinien sont habituels dans les deux affections .

L'échographie se révèle être la plus intéressante des techniques d'imagerie . Le scanner montre une lésion hyperdense, diffuse, occupant une grande partie du globe, sans calcification ce qui ne permet pas de faire le diagnostic certain avec le rétinoblastome. Ce sont les examens biologiques que nous verrons plus loin qui permettent le diagnostic de certitude entre LMO et rétinoblastome.

V.4.2 La toxoplasmose

La localisation et l'aspect peuvent prêter à confusion dans les cas de petits granulomes. En revanche sa survenue chez des malades plus âgés est un élément de diagnostic différentiel important. Les examens immunologiques du sérum et du liquide oculaire permettent le diagnostic, en particulier la charge immunitaire de l'humeur aqueuse pour les anticorps antitoxocara et antitoxoplasme. Toutefois, les quantités d'humeur aqueuse recueillies sont trop faibles dans la majorité des cas pour permettre la réalisation de deux sérologies, le clinicien se trouvant alors devant un problème de choix.

V.4.3 Autres

- Maladie de Coats
- Hyperplasie du vitré primitif
- Fibroplasie rétrolentale
- Foyers chorio-rétiens d'autres étiologies (sarcoïdose ...)

VI. TRAITEMENT

VI.1 Traitement médical

VI.1.1 Corticothérapie

Le pouvoir pathogène des larves de *Toxocara canis* est évident dans la toxocarose oculaire où la présence d'une seule larve peut produire une inflammation sévère entraînant une diminution de l'acuité visuelle. Le traitement fait donc appel, en première intention, aux corticoïdes (22).

a corticothérapie générale

La prednisone est donnée en cure prolongée à la dose de 1 à 2 mg/kg/j. C'est seulement dans les formes cliniques de LMO accompagnées d'une lésion inflammatoire grave, souvent consécutive à la mort du parasite, que l'on a pu démontrer une action symptomatique satisfaisante des corticoïdes.

b corticothérapie locale

L'injection de 4 mg de prednisone sous la capsule de Ténon a donné de bons résultats.

Ces deux modes d'administration sont en général associés.

VI.1.2 Traitement antihelminthique

Les antihelminthiques ont une action limitée puisqu'ils sont surtout actifs sur les vers adultes et que la toxocarose est une impasse parasitaire. Le stade larvaire répond de manière inconstante.

Les avis restent partagés quant à leur utilisation dans les localisations oculaires. Pour Recco (71), la prescription d'antihelminthiques est contre-indiquée en cas d'atteinte oculaire où seuls les corticoïdes sont à prescrire.

a Diethylcarbamazine (DEC) : NOTEZINE®

Elle est utilisée dans le traitement d'autres nématodoses, en particulier les filarioses. La pénétration de la DEC dans l'oeil a été démontrée lors des traitements antifilariens. Cette molécule agit probablement en augmentant l'adhérence à la cible parasitaire et la cytotoxicité des neutrophiles et éosinophiles en présence d'anticorps spécifiques ; elle active aussi les plaquettes qui libèrent alors des radicaux libres.

Elle présente deux types d'effets indésirables : soit des signes généraux non spécifiques (anorexie, nausée, vomissements, céphalée et somnolence à forte dose) soit, dans les heures suivant la prise médicamenteuse en début de traitement, la réaction de Mazzotti, de type anaphylactique liée à la destruction rapide des parasites. Elle s'exprime par un prurit, de la fièvre et un état de choc.

La posologie préconisée est de 6-9 mg/kg/j pendant 3 semaines (70).

Wilkinson a de bons résultats en utilisant 3 mg/kg en 3 prises pendant 2 jours.

b Benzimidazolés

- thiabendazole : MINTEZOL[®]
- mébendazole : VERMOX[®]
- albendazole : ZENTEL[®]
- flubendazole : FLUVERMAL[®]

Ils présentent une efficacité moyenne.

Le MINTEZOL[®] est le plus utilisé.

Il s'agit d'un antihelminthique utilisé dans diverses parasitoses à nématodes chez l'homme en particulier: anguillulose, syndrome de larva migrans cutanée, dracunculose, syndrome de larva migrans viscérale, trichinose.

Les effets indésirables les plus fréquemment rencontrés sont : anorexie, nausée, vomissements et étourdissement. Il peut exister des réactions d'hypersensibilité imposant l'arrêt du traitement.

Maguire et coll. (55) ont montré que le thiabendazole pouvait pénétrer dans l'humeur aqueuse et le vitré d'un oeil siège d'une réaction inflammatoire.

Il est prescrit pendant 15 jours à la dose de 30mg/kg/j en deux prises au cours des repas. Les cures peuvent être répétées après arrêt de 8 jours (13).

c Ivermectine : MECTIZAN[®]

Il est utilisé pour le traitement de différentes filarioses, en particulier l'onchocercose, en prise orale unique (deux comprimés). Ces effets secondaires sont légers et transitoires. Des études sont en cours quant à son utilisation dans la toxocarose et les résultats sont prometteurs.

VI.2 Chirurgie

Elle est utilisée pour le traitement des complications.

VI.2.1 Photocoagulation au laser

Elle est utilisée pour tuer la larve dans la rétine mais elle est efficace uniquement quand la lésion est localisée et que la larve peut être directement visualisée.

Cette technique est contre-indiquée quand la larve est proche d'une structure comme le disque optique et la macula.

Cette technique est peu utilisée.

VI.2.2 Cryothérapie

Plus fréquemment réalisée que la technique précédente, la cryoapplication du granulome vise à la destruction de la larve en la gelant (36).

VI.2.3 Vitrectomie

En cas de réaction inflammatoire prolongée du vitré on peut envisager une vitrectomie. Elle se fait sous anesthésie générale. Il s'agit d'un broutage du vitré au vitréotome.

La vitrectomie permet l'ablation du matériel antigénique parasitaire intra-vitréen et la section des brides vitréo-rétiniennes. Elle peut être suivie d'un tamponnement interne et/ou externe.

Si un décollement de rétine est associé il est préférable d'utiliser pour sa réapplication des injections intra-oculaires de gaz dont la durée de résorption permet le colmatage de ce décollement inflammatoire après ablation de la larve (4, 56, 83).

La vitrectomie par la *pars plana* représente une thérapeutique valable lorsque l'inflammation intra-oculaire persiste malgré un traitement médical intense, quand il existe des brides de traction vitréo-rétiniennes dangereuses ou quand il reste des opacités vitréennes préjudiciables à la vision.

VII . PROPHYLAXIE DE L'INFECTION

Elle garde toujours un rôle fondamental, d'autant plus qu'il faudra éviter les recontaminations (3, 44).

Elle repose sur une information de la population générale concernant les facteurs de risque pour la transmission de la toxocarose. On peut souligner le rôle important des vétérinaires dans cette information.

Elle regroupe :

des mesures vétérinaires

La chimio-prophylaxie des chiens et des chiots constitue un aspect important, qui devrait s'accompagner d'un contrôle parasitologique périodique par les vétérinaires et les éleveurs. Elle consiste à faire un traitement systématique antinématode (Lopatol[®], Stromiten[®]) de tous les jeunes chiots à l'âge de deux semaines puis de le répéter jusqu'à l'âge de 16 semaines avec des intervalles de deux semaines.

Les déjections émises après le traitement doivent être brûlées ou immergées 24 heures dans l'eau de javel diluée au 1/10^{ème}.

des mesures environnementales

Le potentiel infectant des bacs à sable étant important, des mesures doivent être prises pour limiter les risques à ce niveau. La destruction des oeufs étant difficile (ils résistent à des solutions de formol ou d'hypochlorite de sodium de 0,5%) la stérilisation par la chaleur a été proposée. Le changement périodique du sable est certainement le plus simple.

Enfin, la mise à disposition de zones récréatives destinées aux enfants mais interdites aux chiens est fortement recommandée.

des mesures d'hygiène

Des mesures d'hygiène doivent être prises : dissuader l'enfant de pratiquer la géophagie, se laver les mains très soigneusement après avoir touché la terre, caressé un chien, jardiner avec des gants, cloturer les jardins potagers.

De plus il est certainement utile de conseiller une prophylaxie alimentaire : la consommation de fruits et légumes crus, contaminés et négligemment lavés peut représenter une autre source d'infection .

Partie expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

I.1 Sérums

Ce travail repose sur les demandes de sérologie toxocarose adressées au laboratoire depuis fin 1993.

Pour les Ig G spécifiques, les sérums ont été utilisés frais et testés au fur et à mesure de leur arrivée (1 série de dosages par semaine).

Pour les Ig E spécifiques, les sérums antérieurs au mois de septembre 1994 ont été congelés à -80°C et décongelés à température ambiante. Les plus récents ont été utilisés frais. Un volume de 250 µl minimum est nécessaire pour effectuer les différentes techniques

I.2 Antigènes

I.2.1 Les différents antigènes de *Toxocara canis*

L'histoire du sérodiagnostic de la toxocarose montre à ses débuts, une prolifération des tests basés sur l'emploi d'antigènes figurés ou solubles provenant d'adultes ou de larves de *Toxocara canis* : ces antigènes cuticulaires et somatiques, (obtenus par broyat de larves) donnent de fortes réactions croisées. En effet il existe de nombreuses communautés antigéniques entre les helminthes.

Le progrès décisif a été la mise au point par De Savigny (12') de la méthode de maintien en survie des larves de *Toxocara canis* permettant le recueil d'antigènes Excrétés-Sécrétés (ES). Les antigènes (ES) dérivent d'un 2^{ème} stade larvaire de *Toxocara canis*. Ils correspondent aux métabolites avec lesquels le système immunitaire de l'homme est en contact.

I.2.2 Préparation des antigènes

La procédure décrite est celle réalisée par Speiser et Gottstein (87). Les oeufs de *Toxocara canis* sont isolés et cultivés *in vitro* jusqu'au 2^{ème} stade larvaire. Les larves sont maintenues dans un milieu MEM (Minimum Essential Medium) contenant pénicilline et streptomycine. Le milieu est changé chaque semaine. Le surnageant de la culture est filtré à

travers un filtre millipore 0,22 µm, dialysé contre de l'eau distillée et conservé à -20°C. Les surnageants récupérés sont concentrés dans une cellule d'ultracentrifugation.

I.3 Plaques ELISA

On utilise les plaques de microtitration du kit commercialisé par Bordier Affinity Products[®]. Ce sont des barrettes de 8 puits, en polystyrène, sensibilisées avec les Ag (ES) de *Toxocara canis*. Les plaques sont sensibilisées à 4°C pendant 24 heures puis conservées à 4°C, dans un sachet fermé, avec du silicagel.

Ces plaques sont utilisées pour le dosage des anticorps spécifiques Ig G et Ig E.

I.4 Dosage des Ig G spécifiques

Il utilise le test ELISA commercialisé par Bordier Affinity Products[®] (BP).

I.4.1 Principe

La trousse contient le matériel nécessaire pour effectuer 96 essais immunoenzymatiques sur des barrettes sécables sensibilisées. La présence d'anticorps sériques spécifiques est détectée avec une antiglobuline anti-IgG humaine conjuguée à la phosphatase alcaline.

Une plaque entière permet de faire 45 dosages (sérum en double, blanc, témoins).

I.4.2 Matériel

Outre les barrettes sensibilisées avec les antigènes ES de *Toxocara canis*, la trousse contient :

- un tampon de dilution (PBS-Tween)
- une solution de lavage
- un tampon de dilution du substrat
- une solution d'arrêt : phosphate tripotassique (K₃PO₄)
- le conjugué: immunoglobuline anti-IgG humaine couplée à la phosphatase alcaline (P.A.L.)
- le substrat de la P.A.L.(comprimés de paranitrophénylphosphate)
- un sérum de contrôle humain négatif
- un sérum de contrôle humain fortement positif

- un sérum de contrôle humain faiblement positif correspondant au témoin fortement positif dilué au 1/4 et servant de seuil de positivité (recommandations initiales du fabricant)

I.4.3 Mode opératoire

a Blocage des sites non spécifiques

Les puits sont remplis avec la solution PBS-Tween et mis à incuber 15 mn à température ambiante.

Le PBS-Tween est éliminé en secouant les barettes au dessus d'un évier.

b Incubation avec les échantillons

Chaque sérum et contrôle sont testés en double.

100 µl de chaque sérum, dilué au 1/201 dans la solution de PBS-Tween sont déposés par puits et mis à incuber 30 mn à 37°C.

Pour chaque série de dosage on dépose aussi

- un blanc de réaction (tampon de dilution seul)
- un contrôle négatif (dilué au 1/20)
- un contrôle fortement positif (dilué au 1/20)
- un contrôle faiblement positif (dilué au 1/20)

c Lavage

d Incubation avec le conjugué

On distribue 100µl de conjugué, dilué au 1/20, que l'on incube 30mn à 37°C.

e Lavage

f Incubation avec le substrat

On distribue 100 µl de substrat préparé extemporanément (dissolution d'un comprimé de substrat dans le tampon correspondant). L'incubation est de 30 mn à 37°C.

g Mesure de la densité optique

Après arrêt de la réaction en ajoutant 100 µl de K₃PO₄ dans chaque puits, on mesure l'absorbance à 405 nm avec un spectrophotomètre. Nous avons utilisé le spectrophotomètre

Titertek Multiskan MCC/340.

I.4.4 Interprétation des résultats

a Validation du test

La densité optique (DO) des puits ayant contenu le sérum fortement positif doit être comprise entre 0,8 et 2,0. La valeur du contrôle négatif doit être inférieure de 15 % à celle du contrôle positif. La densité optique du contrôle faiblement positif est en général plus de 10 fois supérieure à celle du contrôle négatif.

b Interprétation des résultats

D'après Biokéma[®]:

Le résultat est négatif lorsque la DO du sérum à tester est plus basse que celle du sérum de contrôle faiblement positif. Le résultat est positif lorsque la DO du sérum à tester est plus élevée que celle du sérum de contrôle faiblement positif ; dans ce cas, le titre d'anticorps Ig G dirigés contre les antigènes (ES) de *Toxocara* est significatif.

Cette interprétation n'est pas entièrement satisfaisante (réponse qualitative uniquement, difficulté d'interprétation pour les valeurs limites), c'est pour cela que nous l'avons améliorée. (cf résultats)

Sensibilité et spécificité

D'après une étude détaillée du kit par l'équipe de Jacquier (37), la sensibilité du test est supérieure à 90 % (détermination faite sur une population de 78 personnes ayant une toxocarose cliniquement suspectée et confirmée par ELISA Ig G, provenant de 3 études réalisées précédemment) et la spécificité relative est à 86 %. Les réactions croisées possibles se font avec les nématodes (*Trichinella spiralis*, *Strongyloïdes stercoralis*), les trématodes (*Fasciola hepatica*) ainsi qu'avec certains protozoaires (*Entamoeba histolytica*).

I.5 Dosage des IgE totales : test Pharmacia IgE EIA

I.5.1 Principe

Cette trousse permet d'effectuer un dosage immunoenzymatique basé sur la technique sandwich.

I.5.2 Calibration

Les standards IgE sont étalonnés par rapport à la "seconde préparation de référence internationale 75/502 d'IgE de sérum humain" de l'OMS.

I.5.3 Matériel

Chaque trousse contient assez de réactifs pour 100 déterminations, soit 42 échantillons, un sérum de contrôle et une courbe standard en double.

- tubes anti IgE (Anticorps monoclonaux de souris)
- conjugué : anti-IgE humaine couplée à la galactosidase
- standards IgE (IgE humaine dans du sérum cheval) titré en kU/l : 0 ; 5 ; 20 ; 100 ; 400 ; 1000 .
- contrôle humain : valeurs limites indiquées sur le flacon
- solution de lavage
- substance de développement
- solution d'arrêt

I.5.4 Mode opératoire

Chaque détermination est réalisée en double pour les standards, le sérum de contrôle et les échantillons inconnus.

Les échantillons sont testés non dilués, toutefois des échantillons de concentration supérieure à 1000 kU/l doivent être dilués avec le standard à 0 kU/l.

Succintement :

- les tubes sont pré-lavés avec 2 ml de solution de lavage.
- 50 µl de chaque sérum et 50 µl de conjugué sont mis à incuber dans un tube 3 heures à température ambiante et sous agitation permanente.

Après une phase de lavage, et addition de 200 µl de substance de développement, les tubes sont mis à incuber 30 mn à 37°C.

Après avoir arrêté la réaction avec 1 ml de substance inhibitrice, l'absorbance est lue à 413 nm.

Pour des raisons de praticabilité un lecteur de microplaque est utilisé : 200 µl de chaque solution colorée étant transférés dans un puits de microplaque à fond plat.

I.5.5 Calcul des résultats

Une courbe est tracée sur du papier semi-logarithmique en reportant les valeurs d'absorbance des standards en ordonnée et la concentration en Ig E correspondante en abscisse. On peut ainsi lire directement le titre en Ig E totales des sérums inconnus, sur la courbe.

I.5.6 Sensibilité et spécificité

Le seuil de détection est inférieur à 2 kU/l.

Les réactions croisées sont inexistantes à des concentrations physiologiques avec les immunoglobulines A, D, M, et G.

I.6 Dosage des Ig E spécifiques

Ce dosage a fait l'objet d'une mise au point détaillée dans le chapitre " résultats ". Le principe est le même que pour le dosage des Ig G spécifiques (test immunoenzymatique), mais dans ce cas on utilise une antiglobuline anti Ig E qui révélera spécifiquement les Ig E dirigés contre *Toxocara canis*.

I.6.1 Matériel

On utilise les microplaques sensibilisées avec les antigènes (ES) du kit Biokema[®], ainsi que la solution de lavage et le PBS-Tween de ce même kit (pour le blanc, les dilutions éventuelles et le blocage des puits).

Les autres réactifs immunoenzymatiques sont issus du kit Phadezym RAST de Pharmacia[®].

- antiglobuline anti Ig E couplée à une enzyme la galactosidase
- substance de développement : o-nitrophényl-b galactoside (substrat) et glutathion (agent réducteur)
- tampon de développement
- substance inhibitrice : carbonate de sodium

Nous avons choisi nos sérums témoins selon 2 critères :

- 1- une densité optique comprise entre 0,8 et 2,0 lors des différents essais de la technique, pour le témoin fortement positif

Un sérum pur a été utilisé comme témoin fortement positif
Sa dilution au 1/4 a été utilisée comme témoin faiblement positif.
2- une quantité suffisante pour effectuer un nombre important de dosages.

I.6.2 Mode opératoire

a Blocage des puits

b Incubation avec les échantillons de sérum

On dépose en double 50 µl de sérum pur mis à incuber 3 heures à 25°C.
Pour chaque série de dosages on dépose aussi 50 µl de TBS-Tween qui sert de blanc réaction.

c Incubation avec le conjugué

Après lavage de chaque cupule, on dépose 50 µl du conjugué anti Ig E dans chaque puits. L'incubation est de 17 heures à 25°C.

d Incubation avec le substrat

Après lavage on dépose 150 µl de substrat . L'incubation est de 2 heures à 37°C

e Mesure de la DO

Après arrêt de la réaction par addition de 50 µl de solution bloquante, la DO est lue à 413 nm.

II . RESULTATS

II.1 Mise au point du dosage des Ig E spécifiques

Une étape de mise au point a été nécessaire afin de réaliser en parallèle le dosage des Ig E et Ig G spécifiques en utilisant la même plaque sensibilisée.

Nous avons utilisé l'antiglobuline anti-IgE Tebu[®] couplée à la phosphatase alcaline (même enzyme que pour l'antiglobuline anti IgG du kit Biokema[®]).

Différentes étapes ont été réalisées pour optimiser :

- la concentration de l'antiglobuline
- la concentration des sérums
- les différents temps d'incubation

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec une concentration en antiglobuline de 1/3000 , des sérums dilués au 1/10 et des temps d'incubation avec les échantillons de 3 heures à 25°C, avec l'antiglobuline, de 19 heures à 25°C, et avec le substrat, de 30 minutes à 37°C. Toutefois des résultats très peu reproductibles nous ont conduits à abandonner cette antiglobuline .

Nous avons utilisé alors l'antiglobuline Pharmacia[®] préconisée dans la technique publiée par Magnaval qui reproduit la technique du RAST de Pharmacia. Cette dernière permet le dosage d'un certain panel d'Ig E spécifiques impliquées dans l'allergie.

II.2 Détermination des seuils de positivité

II.2.1 Dosage des Ig G spécifiques

a Harmonisation des manipulations

Dans la mesure où on ne trouve pas exactement les mêmes valeurs de densité optique (DO) pour les témoins faiblement positif et fortement positif, suivant les séries, il est difficile de comparer les résultats obtenus sur des manipulations successives. On a donc voulu corriger les DO obtenues pour les sérums en fonction des valeurs obtenues pour les témoins, afin de pouvoir effectuer des comparaisons. On a donc établi un facteur de correction Y pour chaque manipulation.

$$Y = y_1 / y_2 \quad \text{avec}$$

$$y_1 = \frac{\text{moyenne des DO du témoin faiblement positif}}{\text{DO du témoin faiblement positif}}$$

$$y_2 = \frac{\text{moyenne des DO du témoin fortement positif}}{\text{DO du témoin fortement positif}}$$

On peut simplifier cette équation :

$$Y = y_1 / y_2$$

$$= a \times (\text{DO témoin fort. positif} / \text{DO témoin faibl. positif})$$

et $a = \frac{\text{moyenne des DO du témoin faiblement positif}}{\text{moyenne des DO du témoin fortement positif}}$

Les moyennes des DO des témoins faiblement et fortement positifs ont été calculées sur les valeurs obtenues pour 69 manipulations. (tableau 1) :

$$\text{Moyenne des DO du témoin faibl. positif (x 100)} = 87,76$$

$$\text{Moyenne des DO du témoin fort. positif (x 100)} = 154,26$$

d'où $a = 0,57$ et $Y = 0,57 \times \frac{\text{DO témoin fort. positif}}{\text{DO témoin faibl. positif}}$

ainsi pour chaque sérum on calcule **DO corrigée = Y x DO obtenue**

b Détermination de la valeur seuil

350 sérums dosés en IgG, pour lesquels la DO corrigée a été calculée, ont été repris afin de tracer la courbe $DO = f(\text{sérum})$.

On trace la droite de régression. La valeur seuil est donnée par le point coupant l'axe des ordonnées à l'origine :

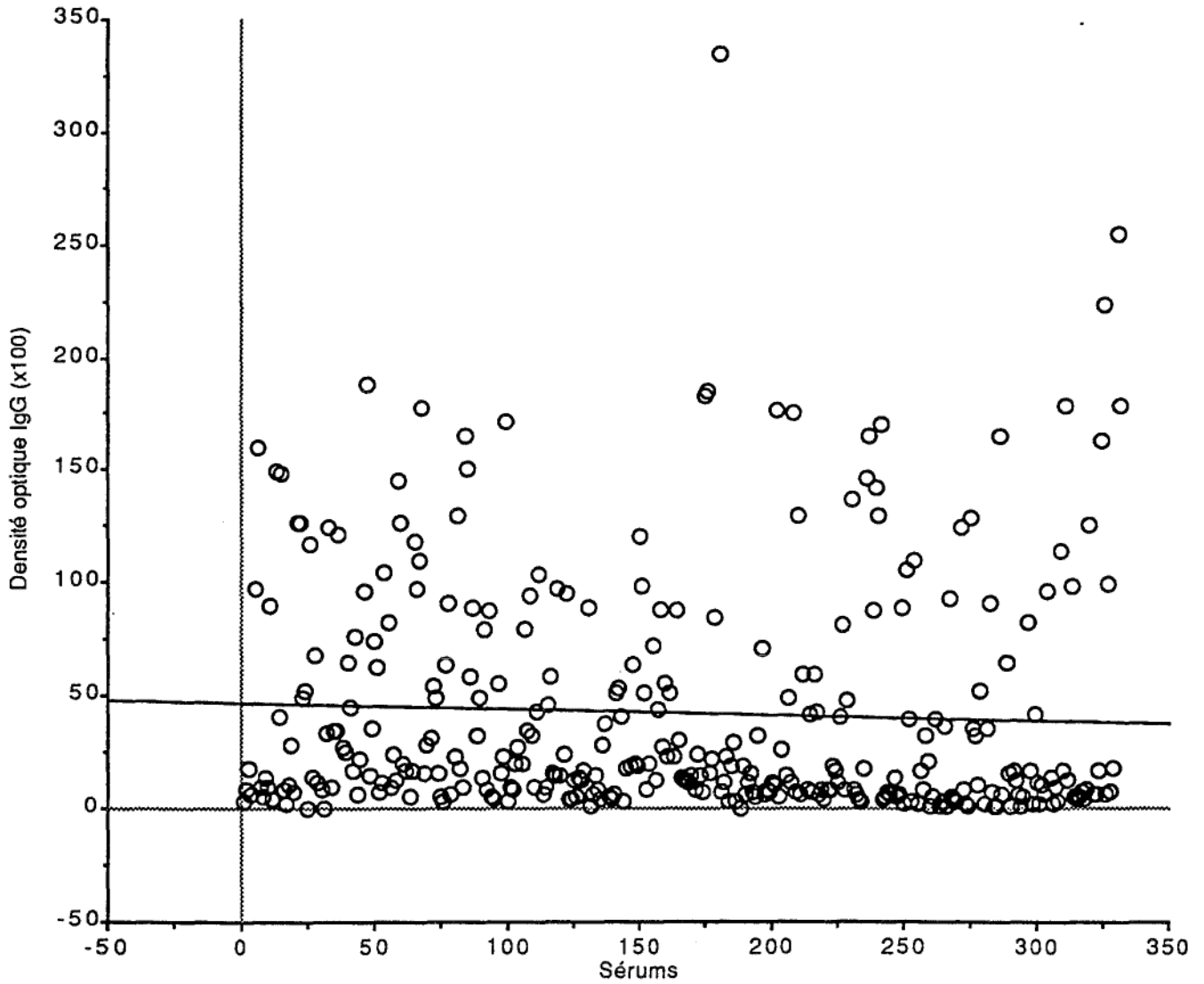
Le seuil de positivité retenu est de **0,5**. (graphe 1)

Tableau 1 : Facteurs de correction obtenus à partir de 77 expériences

	Densité optique		Facteur de correction
	faiblement +	fortement +	
Moyennes	87,76	154,26	
	66	128	1,11
	122	229	1,07
	103	168	0,93
	85	160	1,07
	94	161	0,98
	98	163	0,95
	111	187	0,96
	84	149	1,01
	88	145	0,94
	74	138	1,06
	97	162	0,95
	125	182	0,83
	125	185	0,84
	88	157	1,02
	75	137	1,04
	83	263	1,81
	73	129	1,01
	90	171	1,08
	92	163	1,01
	87	157	1,03
	127	171	0,77
	126	183	0,83
	113	167	0,84
	61	142	1,33
	81	155	1,09
	78	147	1,07
	70	128	1,04
	86	159	1,05
	87	153	1,00
	78	143	1,05
	59	121	1,17
	88	153	0,99
	66	172	1,49
	96	169	1,00
	82	142	0,99
	84	139	0,94
	74	133	1,02

Tableau 1 : Facteurs de correction obtenus à partir de 77 expériences

58	121	1,19
97	163	0,96
83	141	0,97
78	136	0,99
79	131	0,95
75	129	0,98
85	140	0,94
83	143	0,98
86	144	0,95
72	130	1,03
92	149	0,92
80	139	0,99
70	127	1,03
50	104	1,19
85	153	1,03
79	136	0,98
81	130	0,91
73	134	1,05
70	135	1,10
68	122	1,02
90	153	0,97
76	132	0,99
66	123	1,06
104	159	0,87
99	171	0,98
73	133	1,04
87	150	0,98
108	178	0,94
105	175	0,95
129	190	0,84
86	143	0,95
85	165	1,11
99	158	0,91
76	133	1,00
81	139	0,98
75	144	1,09
89	149	0,95
87	144	0,94
84	152	1,03
87	139	0,91
109	170	0,89



Grphe 1 : Seuil de positivité des Ig G

II.2.2 Dosage des Ig E spécifiques

a Harmonisation des manipulations

Les mêmes calculs que pour les Ig G ont été réalisés. On appelle Z le facteur de correction pour les Ig E spécifiques.

$$Z = b \times (\text{DO témoin fort. positif} / \text{DO témoin faibl. positif})$$

$$b = \frac{\text{moyenne des DO du témoin faibl. positif}}{\text{moyenne des DO du témoin fort. positif}}$$

b a été calculé sur 11 manipulations (tableau 2).

$$b = 0,59 \text{ et}$$

$$Z = 0,59 \times \frac{\text{DO témoin fort. positif}}{\text{DO témoin faibl. positif}}$$

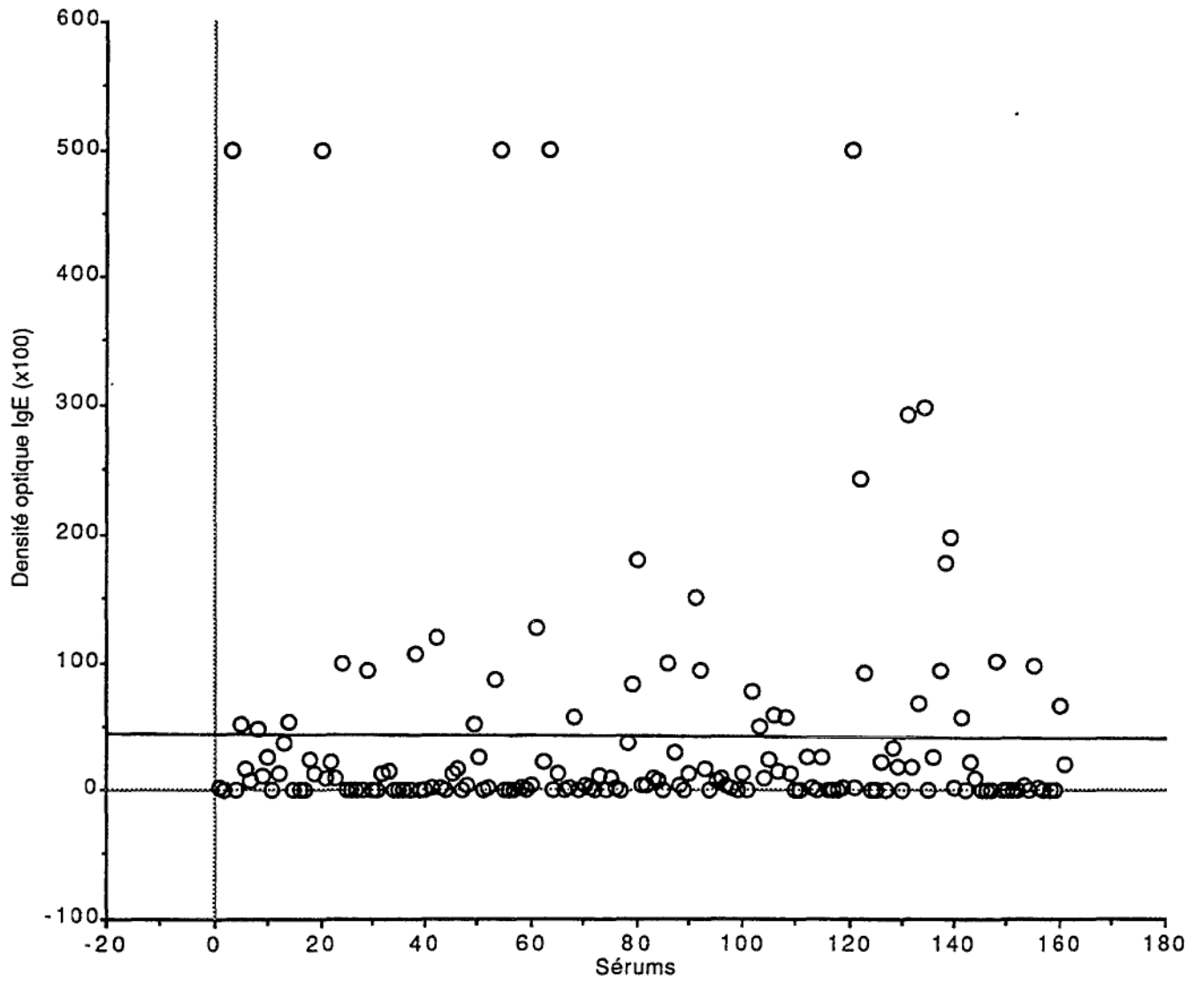
ainsi pour chaque sérum : **DO corrigée = Z x DO obtenue**

b Détermination de la valeur seuil.

Le même seuil est obtenu soit 0,5. (graphe 2)

Tableau 2 : Facteurs de correction obtenus à partir de 11 expériences

	Densité optique faiblement + fortement +		Facteur de correction
Moyennes	92,73 158,46		
	135	205	0,90
	72	130	1,07
	55	150	1,61
	87	143	0,97
	87	110	0,75
	103	173	0,99
	92	178	1,14
	93	165	1,05
	70	109	0,92
	124	197	0,94
	102	183	1,06



Graphe 2 : Seuil de positivité des Ig E

II.3 Comparaison des deux techniques de dosage

176 sérums ont été testés à la fois en Ig G et Ig E.

II.3.1 Test d'indépendance des 2 variables quantitatives : Ig G et Ig E spécifiques.

Les sérums sont représentés sur le graphe 3 par leur valeur, en Ig G en abscisse et Ig E en ordonnée.

Chaque sérum est caractérisé par un point défini par sa valeur en Ig G spécifiques et sa valeur en Ig E spécifiques.

Dans ce nuage de points, la droite de régression est tracée, droite représentant le mieux possible la variation de y en fonction de x.

x et y sont elles deux variables indépendantes ?

Le test d'indépendance entre deux variables x et y à partir d'un échantillon de n couples de valeurs est basé sur la valeur de la pente en coordonnées réduites r^2 (calcul grâce au logiciel Statview Brain Power Inc, Calabasas).

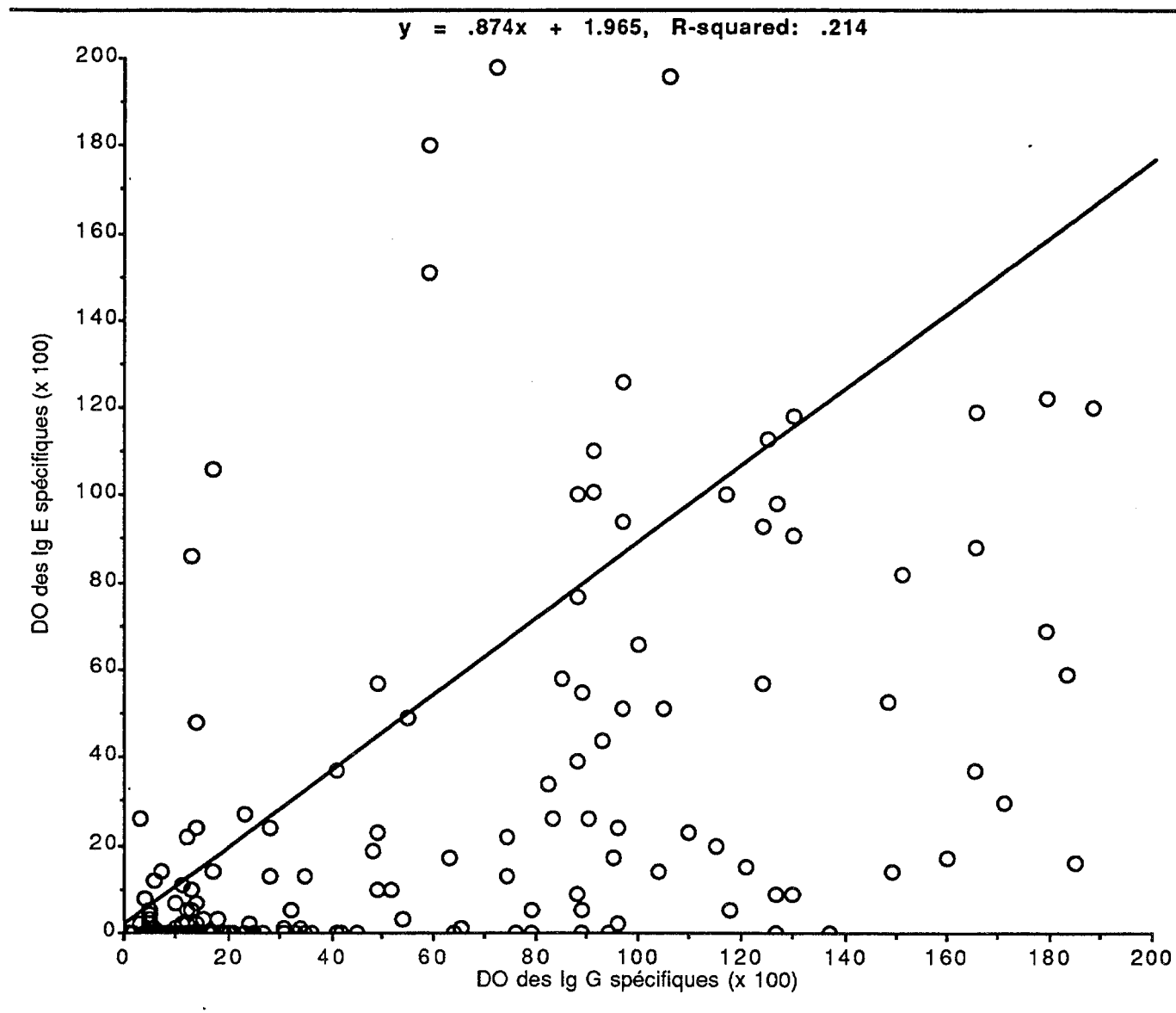
$$r^2 = 0,214$$

La table du coefficient de corrélation est insuffisante pour le nombre d'échantillons (notre degré de liberté est supérieur à 100). On calcule donc le t :

$$t = (r / \sqrt{1-r^2}) \times \sqrt{n-2} \quad \text{et} \quad n = 176$$

$$t = 6,9$$

D'après la table de t, la liaison n'est pas significative : les **deux variables sont donc indépendantes.**



Grappe 3 : Droite de régression Ig G, Ig E

II.3.2 Test d'indépendance des deux variables qualitatives : positivité et négativité des Ig G et Ig E spécifiques.

Les résultats se répartissent de la façon suivante :

Tableau 3 : Répartition des résultats en Ig G et Ig E spécifiques pour les 176 sérums dosés

	Ig G spécifiques positives	Ig G spécifiques négatives	Total des effectifs
Ig E spécifiques positives	45 (23)	4 (26)	49
Ig E spécifiques négatives	39 (61)	88 (66)	127
Total des effectifs	84	92	176

Légendes :

<p>effectif observé : o (effectif théorique = calculé : c)</p>
--

La comparaison de deux pourcentages peut être effectuée par le test du χ^2 à partir du tableau de contingence 2 x 2 (tableau 3). On calcule d'abord un des effectifs théoriques (totale des lignes multiplié par total des colonnes, divisé par total général), les 3 autres s'en déduisent par différence à partir des totaux de lignes et de colonnes. Nos effectifs théoriques sont supérieurs à 5 (condition d'application du calcul).

On forme ensuite $\chi^2 = \sum \frac{(o - c)^2}{c}$ pour l'ensemble des 4 cases.

$$\chi^2 = 54,93$$

Le degré de liberté (ddl) est égal à 1. D'après la table du χ^2 , la différence est significative à $p = 0,001$.

Ceci confirme l'absence de corrélation mise en évidence par l'étude de la régression .

II.4 Analyse des résultats après étude des dossiers correspondants

On s'est intéressé aux cas présentant une positivité dans au moins une des deux techniques.

Après étude des dossiers, on a retenu 36 dossiers pour lesquels un diagnostic a été posé. Sur ces 36 dossiers, 11 sont des patients ayant une toxocarose clinique, 25 sont des patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose n'a pas été retenu. Les patients pour lesquels le diagnostic n'est pas encore connu sont exclus bien entendu de cette étude.

II.4.1 Patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose a été retenu

Cette étude recense les cas de toxocarose diagnostiqués au CHU de Grenoble (1 est issu de l'hôpital de La Mure), sur une période de 14 mois environ.

L'absence de diagnostic de certitude, (mise en évidence d'oeufs ou de larves du parasite, ou séroconversion) a rendu l'étude des dossiers assez délicate ; de même que l'absence d'attitude très codifiée quant au traitement face à cette pathologie.

Critères qui ont permis au clinicien de poser le diagnostic de toxocarose :

- > clinique
- > hyperéosinophilie
- > absence d'autres étiologies
- > sérologie en Ig G spécifiques

Ces malades ont tous été traités par antihelminthiques, sauf 1, et se sont améliorés cliniquement sous traitement.

Le patient qui n'a pas eu d'antihelminthique a été traité par corticothérapie uniquement, avec amélioration et le diagnostic de toxocarose n'a été que rétrospectif.

Le tableau 4 rassemble les principales données concernant les 11 malades.

II.4.2 Patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose n'a pas été retenu

Pour tous ces malades, la symptomatologie présentée a été attribuée à une autre étiologie.

Le tableau 5 regroupe ces patients avec leur service d'origine, ainsi que les valeurs obtenues en sérologie avec les deux techniques.

Cas de toxocarose : tableau 4

Patient	Service	Clinique	Eosinophiles	Ig E Totales	Ig G sp.	Ig E sp.	Traitement
Pet	Ophthalmo.	hyalite	<500	>1000	2,24	2,93	Zentel puis Notezine + corticoïdes
Jur	Soins ext. parasitol.	asthénie troubles digestifs prurit	768	280 470 >1000	1,63 1,70 1,88	2,78 3,54 1,20	Mintezol Solupred
Cha	Soins ext. parasitol.	douleurs articulaires	700 600 120 100	260 150 120 34	1,79 1,65 1,30 1,17	1,22 0,88 1,18 1,00	Mintezol
Del	Infect..	troubles digestifs	1232	non connu	0,91 1,00	1,01 0,66	Mintezol
Mag	Infect.	troubles digestifs	1422	1000	1,77	5,00	Mintezol
Dip	Infect.	myalgie toux	<500	28	0,74	0,13	Mintezol
Pil	Dermato.	érythème polymorphe	1056	180	0,97	1,26	Mintezol Medrol
May	Dermato.	eczéma lichénifié	838	non connu	0,59 0,59	1,51 1,80	Notezine corticoïdes
Tir	CH la Mure	amaigrissement asthénie	2475	300	1,24	0,93	Mintezol
Mar	Pediatrie	fièvre crises hypertoniques	53550 8800 2800 936	940 >1000	3,34 2,55	0,19 0,13	Mintezol Solupred
Duc	Pneumo.	poumon éosinophile aïgu détresse respiratoire fièvre	640	700	0,83	2,54	

**Patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose
n'a pas été retenu : tableau 5**

Patient	Service	Ig E totales	Ig G	Ig E
Ham	Ophtalmo.	280	0,89	0,05
Rey	Ophtalmo.	1	0,65	0,01
Rib	Ophtalmo.	27	0,88	0
Mil	Ophtalmo.	24	1,49	0,14
Gui	Ophtalmo.	74	0,54	0,03
Ebr	Ophtalmo.	150	0,76	0
Sur	Ophtalmo.	22	1,18	0,05
Ber	Ophtalmo.	10	1,21	0,15
Ber	Ophtalmo.	85	0,49	0,57
Moh	Ophtalmo.	240	0,13	0,86
Ber	Ophtalmo.	14	0,63	0,17
Bel	Ophtalmo.	82	1,60	0,17
Tre	Ophtalmo.	65	0,52	0,10
Bou	Ophtalmo.	60	1,27	0,09
Car	Ophtalmo.	26	0,76	0,05
Lar	Ophtalmo.	6	1,85	0,16
Bet	Ophtalmo.	170	1,10	0,27
Der	Soins ext. Parasitol.	38 32	0,88	0,09
Sus	Pneumo.	>1000	1,71	0,30
Lev	Infect.	1	0,96	0,24
Msa	Infect.	non connu	0,72	1,98
Fev	Infect.	non connu	0,18	5,00
Pel	Dermatol.	non connu	0,74	0,22
Aiz	Dermatol.	450 370	0,94	0
Fac	CH Chambéry	24	1,30	0,09

II.4.3 Résultats donnés par les Ig G spécifiques

a Valeur prédictive positive

Tableau 6 : Répartition des résultats donnés par les Ig G spécifiques suivant les deux populations

	Cas de Toxocarose	Autres
Ig G spécifiques positives	11	21
Ig G spécifiques négatives	0	4

Dans la mesure où la sérologie Ig G est un des critères d'étude des dossiers ainsi qu'un des critères diagnostiques, (du fait de l'absence de méthode de référence) il est impossible de calculer la sensibilité, la spécificité, et la valeur prédictive négative. Seule la valeur prédictive positive peut être calculée.

On rappelle que :

Valeur prédictive positive (VPP) = probabilité d'être malade si le test est positif.

Valeur prédictive négative (VPN) = probabilité de ne pas être malade si le test est négatif.

D'après le tableau 6 :

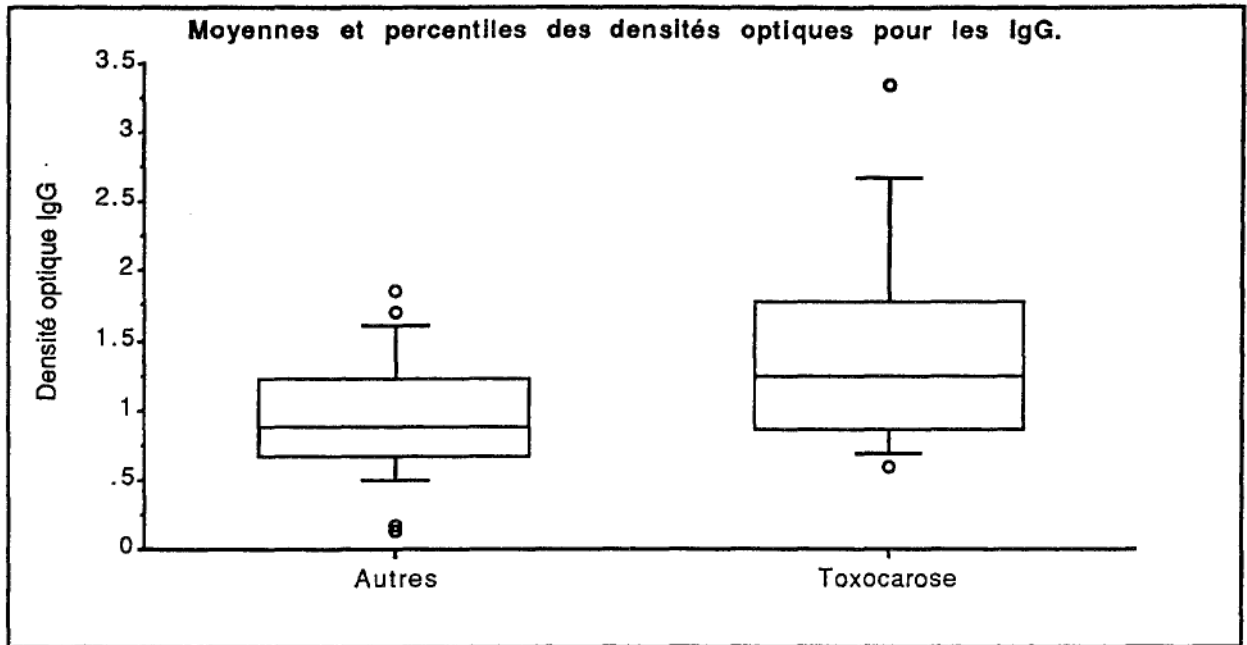
$$\text{VPP} = 11/32 = 34 \%$$

Cette VPP confirme la faible spécificité du dosage des Ig G.

La sérologie Ig G spécifiques avec seuil retenu à 0,5 est très souvent positive en l'absence d'infection clinique à *Toxocara canis*, il s'agit soit d'une infection ancienne, soit d'une toxocarose asymptomatique, soit d'un faux positif (réaction croisée). Rien ne permet à l'heure actuelle de conclure.

b Taux d'Ig G spécifiques

Le graphe 4 représente les valeurs des Ig G spécifiques en fonction des patients atteints ou non de toxocarose.



Grappe 4 : Moyennes et Percentiles des densités optiques pour les Ig G

On constate que le chevauchement des valeurs est important et que malgré une tendance des valeurs pour les non malades à être un peu inférieures, le taux n'est pas intéressant à prendre en compte pour trancher.

II.4.4 Résultats donnés par les Ig E spécifiques

a Comparaison de la répartition des sérums positifs pour les Ig E en fonction des malades et des non malades

On effectue le test du χ^2 à partir du tableau de contingence 2 x 2. (tableau 7)

Tableau 7 : Répartition des résultats donnés par les Ig E spécifiques en fonction des deux populations

	Cas de toxocarose	Autres	Effectifs totaux
Ig E spécifiques positives	9 (4)	4 (9)	13
Ig E spécifiques négatives	2 (7)	21 (16)	23
Effectifs totaux	11	25	36

Dans la mesure où les effectifs calculés ne sont pas tous supérieurs à 5, on est obligé de calculer le χ^2 corrigé (correction due à Yates):

$$\chi^2 \text{ corrigé} = \sum \frac{(|o - c| - 1/2)^2}{c}$$

$$= 11,5$$

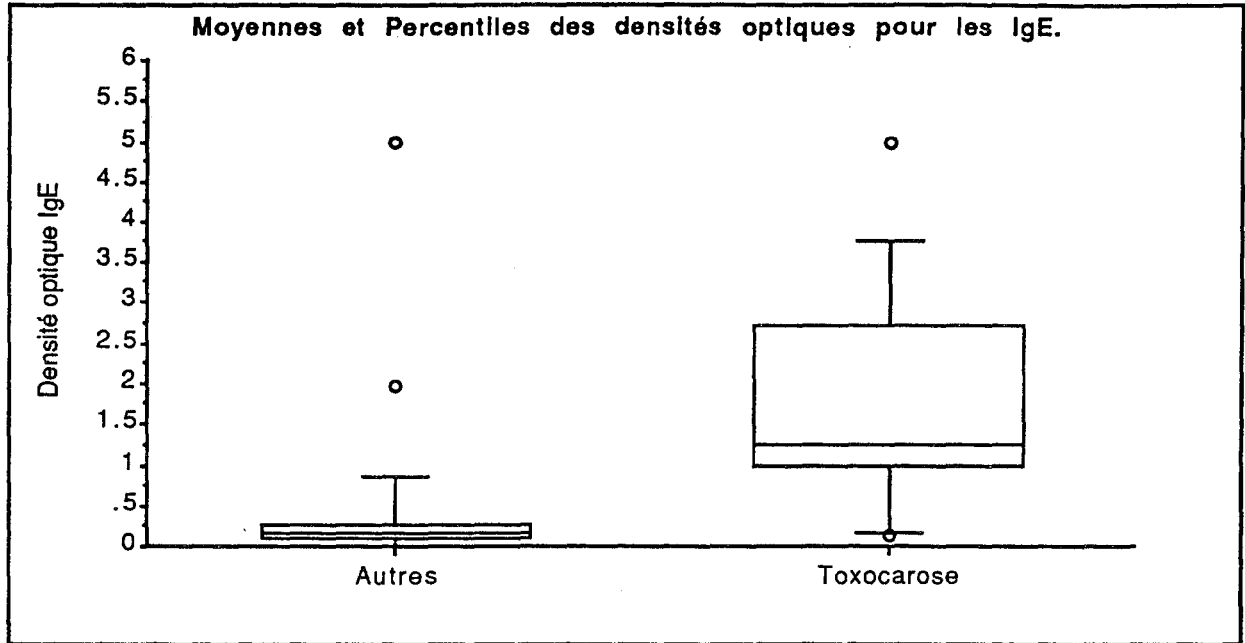
D'après la table du χ^2 , pour un ddl égal à 1, $\alpha < 0,1 \%$, il existe donc une différence significative.

La répartition des Ig E spécifiques positives diffère significativement suivant le type de population malades de toxocarose et non malade de toxocarose.

b Taux d'Ig E

D'après le graphe 5, on remarque que :

- la moyenne des Ig E sp. pour les malades de toxocarose est supérieure à 95 % des valeurs pour les autres malades.
- 90 % des valeurs des Ig E sp. pour les malades de toxocarose sont supérieures à 95 % des valeurs des autres malades.



Grappe 5 : Moyennes et Percentiles des densités optiques pour les Ig E

c Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative

$$VPP = 9 / (9 + 4) = 69 \% \text{ et}$$

$$VPN = 21 / (21 + 2) = 91\%$$

VPP = 69 % et VPN = 91 %

Grâce au dosage des Ig E on améliore déjà la valeur de la VPP, par rapport à celle trouvée pour les Ig G.

II.4.5 Résultats donnés par une interprétation globale des deux sérologies

On considère dans ce cas une sérologie positive quand les deux sérologies Ig G et Ig E sont positives et une sérologie négative, soit quand les deux sérologies sont négatives soit quand l'une ou l'autre est négative.

a Comparaison de la répartition de la sérologie positive en fonction des malades et des non malades

Tableau 8 : Répartition des résultats donnés par la sérologie en fonction des deux populations

	Cas de toxocarose	Autres	Effectifs totaux
Sérologie positive	9 (3)	1 (7)	10
Sérologie négative	2 (8)	24 (18)	26
Effectifs totaux	11	25	36

On effectue le test du χ^2 à partir du tableau de contingence 2 x 2.

$$\chi^2 \text{ corrigé} = 19,9$$

Il existe une différence significative, dans la répartition des sérologies suivant les populations malade ou non malade de toxocarose, avec un degré de signification $< 0,1 \%$.

b Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative

$$\text{VPP} = 9/10 = 90 \%$$

$$\text{VPN} = 24/26 = 92 \%$$

VPP = 90 % et VPN = 92 %

En analysant de façon conjointe les deux sérologies, on améliore la **valeur prédictive positive de façon très nette**.

La valeur prédictive négative est satisfaisante.

Les graphes 6 et 7 illustrent bien le fait que la majorité des malades de toxocarose a un taux positif avec les deux techniques.

Deux cas précis sont intéressants à souligner :

--> le patient non malade de toxocarose et ayant des Ig G et Ig E spécifiques positives, est atteint d'une maladie de Kawasaki. On peut supposer que les positivités pour les deux techniques sont dues à la présence des auto-anticorps.

--> le patient atteint d'une toxocarose et qui ne présente pas d'Ig E est un jeune garçon pour lequel un diagnostic de toxocarose a été porté en 1992, et qui a bénéficié d'un traitement antihelminthique. Les sérums récents dont nous disposons au laboratoire sont en fait des sérums prélevés après traitement pour suivre l'évolution sérologique. Ce cas est intéressant car il montre la persistance des Ig G et la diminution des Ig E qui pourrait être due au traitement.

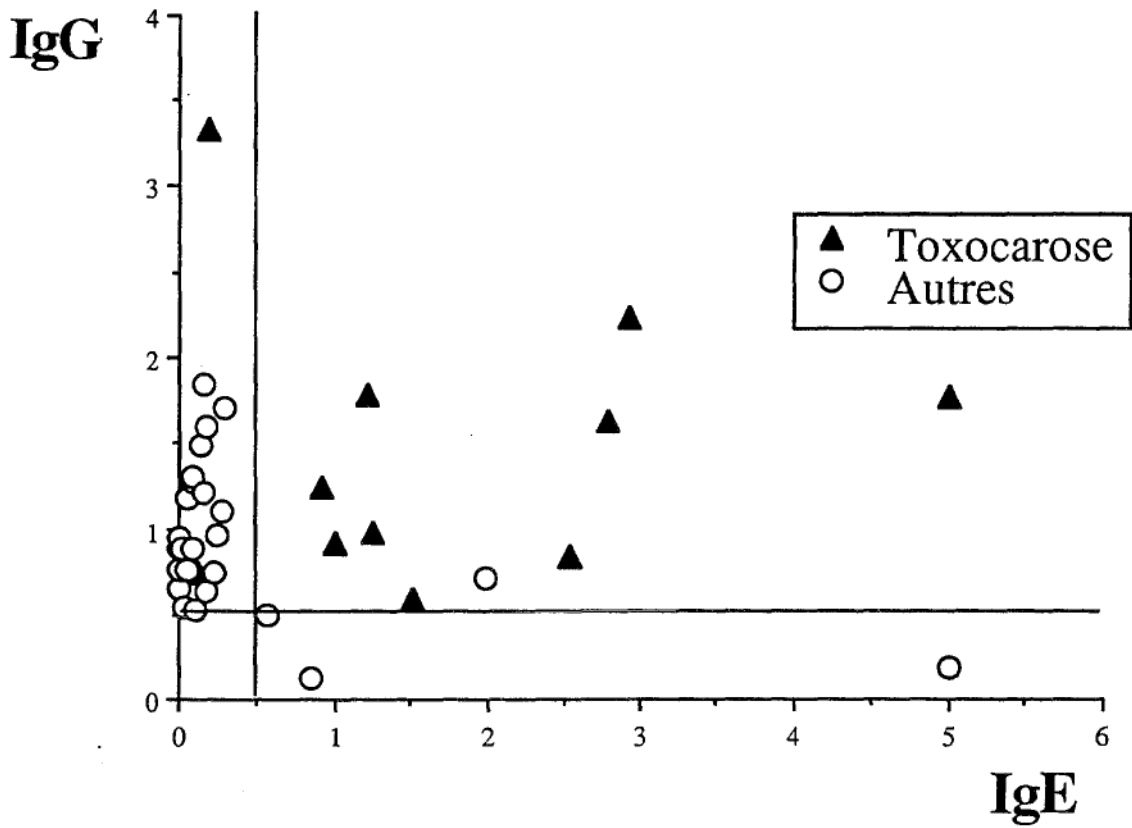
En effet en 1992, les sérologies de ce malade ont été pratiquées à Toulouse : Ig G spécifiques par Western-Blot et dosage des Ig E spécifiques par ELISA. Ces sérologies étaient revenues positives.

Le deuxième malade sans Ig E n'est pas expliqué formellement. Il s'agit d'une personne vivant en milieu rural, présentant comme symptomatologie des sueurs vespérales, des myalgies nocturnes transitoires, une toux irritative. Ce malade ne présente pas d'hyperéosinophilie. Aucune étiologie n'est retrouvée, si ce n'est un résultat de sérologie Ig G positif. Un traitement par Mintezol[®] est instauré. L'amélioration clinique est nette. Le diagnostic de toxocarose est alors retenu. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer l'absence d'Ig E :

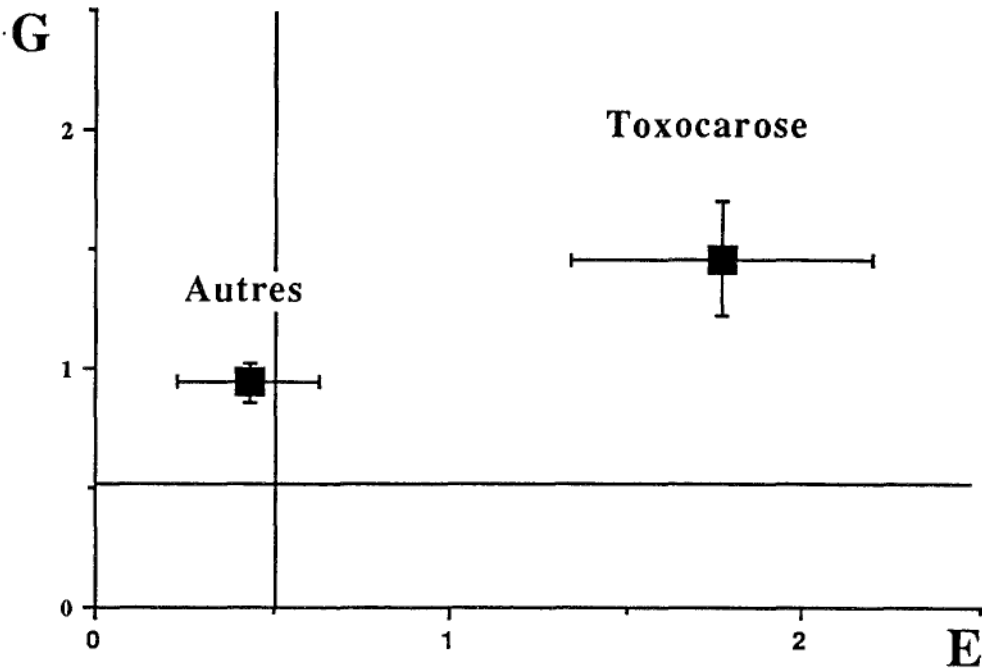
La clinique n'étant pas aiguë, on peut penser que la personne a attendu pas mal de temps avant de consulter, ceci laissant le temps aux Ig E de se négativer.

On peut également supposer qu'il existe des variations inter-individuelles pour la synthèse des Ig E, ce sujet étant faible répondeur ; on remarquera également qu'il n'a pas d'hyperéosinophilie.

Graphe 6



Graphe 6 : Répartition des deux populations, malades de toxocarose, autres malades, en fonction de leur sérologie



Grappe 7 : Répartition des deux populations, malades de toxocarose, autres malades, en fonction des DO Ig G et Ig E (moyenne +/- déviations standards)

II.5 Cas particuliers

Dans cette partie nous allons étudier quelques cas particuliers qui n'ont pas pu être intégré dans les 36 cas.

II.5.1 Malades d'ophtalmologie

Le tableau 9 regroupe un ensemble de patients, qui ont au moins une sérologie toxocarose positive. Ces patients ont une uvéite pour laquelle il n'existe pas d'orientation clinique évoquant une toxocarose, sans que celle-ci puisse toutefois être exclue.

Pour ces malades aucun diagnostic n'est retenu à l'heure actuelle.

S'agit-il d'une toxocarose oculaire atypique ? Dans ce cas la fréquence de cette dernière serait jusqu'à présent fortement négligée. Ou bien s'agit-il d'une toxocarose viscérale symptomatique ou asymptomatique ? Ou bien encore des faux positifs ?

II.5.2 Autres malades

2 cas sont intéressants

Un patient est envoyé en consultation d'hématologie suite à la découverte fortuite d'une hyperéosinophilie sanguine ($1000/\text{mm}^3$). Cette personne n'a pas de symptomatologie. Un bilan étiologique est réalisé. Seule une sérologie Ig G spécifiques toxocarose est positive (1,48).

Sa sérologie Ig E sp. est également légèrement positive (0,53).

Il s'agit très certainement d'une infection biologique à *Toxocara canis*.

Le deuxième patient est un patient d'hématologie également, mais qui présente un lymphome malin non hodgkinien. Il présente une atteinte cutanée qui n'est pas rattachée apparemment au lymphome. Il n'a pas d'hyperéosinophilie.

Sa sérologie toxocarose est positive en Ig G et en Ig E :

Ig G : 1,10

Ig E : 3,85

La possibilité d'une toxocarose est soulevée dans le dossier mais devant le traitement lourd déjà attribué à ce malade (6 cures de chimiothérapie) il n'a pas reçu de traitement antihelminthique.

On ne peut exclure également une sérologie faussement positive du fait même du lymphome.

Uvéites non étiquetées : tableau 9

Uvéites pour lesquelles il n'existe pas d'orientation clinique évoquant une toxocarose sans que celle-ci puisse être exclue.

Patient	Clinique	Date des sérologies	Ig G sp.	Ig E sp.	PCA (DG)
Ore	Uvéite antérieure	décembre 93	1,42	3,95	N (0,37)
		"	1,65	1,19	
Ric	"	janvier. 94	0,82	0,34	
		mars 94	1,83	0,59	
Mon	"	mars 94	0,85	0,58	
		avril 94	0,55	0,49	
Cam	"	octobre 93	1,5	1,78	
Cha	"	octobre 94	0,17	1,06	
Mic	panuvéite	juin 93	1,79	0,69	N(1,82)
		février 94	1,30	0,91	
		décembre 94	1,24	0,57	
Arr	"	octobre 93	0,93	0,44	N (0,20)
		novembre 93	0,89	0,55	
Arp	hyalite bilatérale vascularite	novembre 94	0,97	0,51	
Gin	épisclérite	aout 94	1,45	>5	
Gui	choriorétinite	juin 93	1,25	1,13	N (0,26)

III . DISCUSSION

Le diagnostic de la toxocarose est délicat et est basé sur un faisceau d'arguments épidémiologiques, cliniques et biologiques. La sérologie est importante dans les critères diagnostiques, d'autant plus qu'il n'existe pas de diagnostic de certitude.

Jusqu'à présent au laboratoire de Grenoble, seul le dosage des Ig G spécifiques par ELISA (Biokema [®]) était réalisé, technique sensible, spécifique, mais qui pose un certain nombre de problèmes :

1) pour l'interprétation du résultat, le fabricant préconise une réponse qualitative uniquement, par comparaison à un témoin. Nous étions gênés à chaque fois pour l'interprétation d'une valeur limite c'est à dire proche du témoin. De plus les résultats étaient rendus en densité optique, valeur arbitraire, car étroitement liée aux valeurs des témoins, ces derniers pouvant subir des variations inter-manipulations. Un suivi sérologique était par conséquent impossible.

2) on connaît la faible valeur discriminante des Ig G pour diagnostiquer une infection en cours à *Toxocara*.

3) la sérologie toxocarose rentre dans le bilan systématique des uvéites : pourtant une sérologie positive en Ig G n'affirme pas une larva-migrans oculaire et une sérologie négative n'infirmes rien. Les patients cliniquement suspects de toxocarose sont alors reconvoqués pour une ponction de chambre antérieure. Toutefois le malade peut ne plus être en crise, ou avoir déjà eu un traitement anti-inflammatoire, et la ponction de chambre antérieure peut être faussement négative. Un problème similaire se pose pour la toxoplasmose. La répétition du geste est difficile à envisager et aucun diagnostic n'est fait. Les Ig E spécifiques ayant été décrites comme marqueurs de toxocarose oculaire par certains auteurs (19), ceci a été un argument supplémentaire pour mettre en place leur dosage.

Le premier point a été résolu par la mise en place d'un facteur de correction à chaque manipulation, tenant compte des valeurs des témoins (ce procédé est déjà utilisé pour d'autres sérologies parasitaires effectuées par ELISA). Pour les deux techniques, le seuil de positivité retenu, indépendant de la manipulation, est de 0,5. Le calcul de la densité optique corrigée, permet d'avoir une approche du taux sérologique, et permet éventuellement de

comparer des taux successifs. On pourra mettre en évidence par exemple une baisse des taux ou une ré-infestation avec ré-ascension du taux sérologique (30).

Le test ELISA Ig G est très sensible et permet de détecter de faibles quantités d'anticorps. Il convient d'interpréter un résultat positif par cette seule technique avec prudence et de ne pas attribuer abusivement à une toxocarose, une sérologie positive qui peut être antérieure à une nouvelle pathologie surajoutée.

En effet dans quelle mesure peut-on affirmer que les habitants de notre région n'ont jamais été en contact avec *Toxocara canis* ?

Le titre en anticorps a été suivi pendant 5 ans chez un groupe de patients atteints d'une toxocarose. Il a été observé que la stimulation antigénique est suffisante pour maintenir des taux élevés d'Ig G pendant cette période. Le titre en anticorps diminuerait doucement (18). Ceci est similaire à ce qui a été montré chez les modèles animaux. Chez le singe, il a été constaté que les larves de *Toxocara canis* restent infectieuses pendant au moins 10 ans.

Ceci explique la valeur faible de la valeur prédictive positive pour les Ig G.

Un taux sérologique ne permet pas à l'heure actuelle de dater l'infestation. La cinétique anticorps est de plus, compliquée par le fait que des réinfestations sont possibles.

Notre travail montre que les Ig E sont mal corrélées avec les Ig G : résultat retrouvé également par Magnaval (49) qui décrit une mauvaise corrélation des Ig E sp. Elisa avec les Ig G sp. en Western Blot et Ig G en Elisa. On peut donc supposer que les deux isotypes n'ont pas la même cinétique et que d'après notre étude la présence d'Ig E semble être reliée à une infection aiguë.

Dans la mesure où les Ig G signalent la présence de larves dans l'organisme et bien qu'à l'heure actuelle nous ne disposons pas d'éléments probants pour leur faire jouer un rôle pathogène, les Ig E ne peuvent être utilisées seules car leur sensibilité est modérée. Le problème des patients ayant des Ig E spécifiques uniquement, n'est pas résolu : 4 patients pour 176 sérums testés dans notre étude (2,3 %). Magnaval dans son étude retrouve 12 patients positifs en Ig E uniquement sur 150 sérums testés (8 %). Plusieurs hypothèses peuvent être formulées :

- faux positif
- dose infestante faible : peu de larves entraîneraient surtout la synthèse d'Ig E
- caractère individuel : certaines personnes développeraient préférentiellement une réponse à Ig E.

Un autre intérêt semble être le suivi thérapeutique. Magnaval dans son étude compare l'évolution de différents paramètres chez des sujets traités et des sujets non traités. Pour les

deux, il existe une diminution de la symptomatologie clinique et du taux d'éosinophiles. Les Ig E spécifiques diminuent uniquement quand il y a eu traitement alors que les Ig G ne diminuent pas.

D'après notre étude la confrontation des deux sérologies semble être intéressante pour différencier une infection ancienne d'une infection en cours : la positivité des deux sérologies conduit à préconiser un éventuel traitement si la clinique est suffisante.

En effet la positivité des deux sérologies augmente la valeur prédictive positive de 34 % à 90 %.

En revanche, cette positivité des deux techniques ne semble pas être liée à l'intensité des signes cliniques et l'infection active récente peut se manifester uniquement par une hyperéosinophilie.

La présence d'Ig E spécifiques en faveur d'une infection aiguë est à l'heure actuelle peu documentée, toutefois on retrouve cette notion dans plusieurs articles récents : Van Knapen souligne que la détermination des Ig E spécifiques justifie des études de suivis cliniques et que ces Ig E spécifiques semblent être associées à une infection active (92). Gueglio suggère que l'absence d'isotype E peut signifier l'ancienneté du parasitisme (29).

Une positivité d'une seule sérologie est plus en faveur d'une infection ancienne, mais signale la présence de larves dans l'organisme. Il est peut-être intéressant dans ce cas de sensibiliser le patient à ce problème et de conseiller une vermifugation de ses animaux afin d'éviter des réinfestations ultérieures. Une enquête familiale serait également souhaitable.

Pour les larva-migrans oculaires, l'intérêt de la sérologie est relative : en effet si parfois on retrouve des taux élevés en Ig G et E spécifiques dans le sérum (comme pour notre patient), ce n'est pas toujours le cas. La présence d'anticorps spécifiques dans le sérum a lieu, quand il existe une réaction inflammatoire suffisante pour leur permettre de passer la barrière hémato-oculaire, ou dans les cas où la larva-migrans oculaire est associée à une larva-migrans viscérale, ce qui est rare. La ponction de chambre antérieure reste un élément indispensable. Sa réalisation doit toutefois être opérée suivant des critères précis pour minimiser les faux négatifs :

- le plus rapidement après la consultation qui est motivée par les troubles oculaires.
- avant traitement par corticoïdes, par exemple.

L'intérêt des Ig E dans la toxocarose oculaire n'est pas complètement élucidé par cette étude. Il ne semble pas que leur synthèse soit un marqueur d'une infection oculaire comme le prétendaient certains auteurs : les malades ayant une larva-migrans viscérale en cours, ont des taux parfois importants en Ig E spécifiques.

Cette détermination des Ig E spécifiques suscite une nouvelle interrogation concernant les patients d'ophtalmologie ayant des sérologies élevées, pour les deux isotypes, et qui sont tous des patients pour lesquels aucune étiologie n'a été retrouvée. Sont-ils des cas de toxocarose oculaire avec une symptomatologie beaucoup moins typique que celle décrite traditionnellement ? Dans ce cas cette pathologie aurait été sous-estimée du fait même d'un diagnostic difficile à conduire.

Sont-ils des patients ayant une larva-migrans viscérale en cours, symptomatique ou uniquement biologique, pour lesquels un traitement ou au moins une information sur la prophylaxie serait souhaitable ?

Il sera important dans l'avenir, d'étudier de près ces patients afin d'élucider le problème.

Conclusion

FACULTE DE PHARMACIE

Mémoire soutenu par M^{me} Chamel épouse Tossuz

Conclusion

La toxocarose est une parasitose à ne pas méconnaître et qui pose des problèmes tant par la multiplicité des tableaux cliniques observés, que par l'absence de diagnostic de certitude.

Les réactions sérologiques sont à la base du diagnostic biologique, comme pour d'autres pathologies, la toxoplasmose par exemple, où la mise en évidence du parasite ne peut être qu'exceptionnellement réalisée. Mais, à la différence de la toxoplasmose où la cinétique des anticorps est bien connue, résultat d'une brève parasitémie, les larves de *Toxocara*, en impasse dans l'organisme, semblent pouvoir stimuler longtemps les défenses immunitaires.

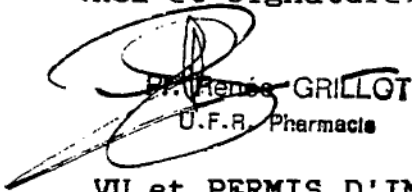
Si la symptomatologie des syndromes de larva-migrans viscérale est généralement pauvre, la gravité des lésions au cours des larva-migrans oculaires justifie la mise en oeuvre d'un diagnostic rapide et performant. Cet objectif ambitieux n'a pu être atteint en raison d'une part de l'ampleur des améliorations à apporter aux méthodes usuelles et de la faiblesse temporaire de recrutement de patients souffrant de toxocarose oculaire. Cependant, les résultats obtenus montrent que la confrontation des deux sérologies Ig G et Ig E semble être utile pour différencier une infection ancienne d'une infection récente, la positivité des deux étant bien en faveur d'une infection en cours à *Toxocara canis*.

Il sera intéressant dans l'avenir de continuer cette étude pour renforcer ces arguments à partir

d'autres cas de toxocarose.

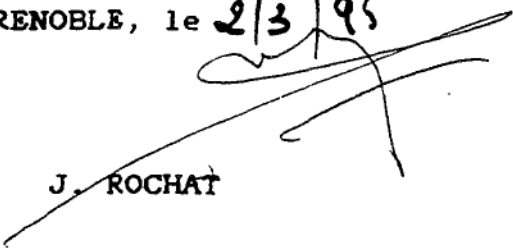
Un autre aspect à envisager, sera celui d'une étude soignée des patients, ayant une sérologie positive avec les deux techniques, patient atteints d'une uvéite non étiquetée jusqu'à présent, afin d'y déceler peut être une larva-migrans oculaire et de découvrir ainsi une fréquence sous estimée de cette pathologie.

Le Président du Jury
(nom et signature)



Dr. Grillo GRILLOT
U.F.R. Pharmacie


VU le Doyen
de la Faculté de Pharmacie

GRENOBLE, le 2/3/95

J. ROCHAT

VU et PERMIS D'IMPRIMER

GRENOBLE, le 10.03.95

Le PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
J. FOURIER - GRENOBLE 1
Président de l'Université
Joseph FOURIER - Grenoble 1


Daniel BLOCH

Glossaire

Glossaire

Ascaridés : famille de nématodes

Capsule de Ténon : membrane fibreuse, blanche, souple, en forme de cupule, qui recouvre la portion sclérale du globe oculaire. Considérée comme une expansion des gaines musculaires avec lesquelles elle est en continuité, elle s'insère en avant autour de la cornée avec la conjonctive qui la recouvre et en arrière autour du nerf optique.

Episclérite : inflammation du tissu épiscléral revêtant le plus souvent une forme nodulaire.

Géophagie : pratique d'enfants ou de malades mentaux qui mangent de la terre.

Glaucome : affection oculaire caractérisée par l'augmentation lente ou rapide de la pression intra-oculaire, l'atrophie des membranes de l'oeil et l'excavation du nerf optique.

Granulome : tissu inflammatoire caractérisé par le développement de néovaisseaux, la mobilisation des fibroblastes qui se transforment en histiocytes et l'infiltration par les leucocytes. Sa constitution est l'aboutissement de la phase exsudative et de la phase cellulaire du processus inflammatoire.

Hyalite : inflammation du corps vitré.

Hypopion : collection purulente de la chambre antérieure de l'oeil.

Interleukine : terme générique utilisé pour un groupe de peptides qui transmettent des signaux entre différentes cellules du système immunitaire.

Sécrétées par les cellules T, l'Il 4 et Il 5 permettent la division et la différenciation des cellules B pour l'Il 4 et cellules B et éosinophiles pour Il 5.

Impasse parasitaire : désigne le fait qu'un parasite ayant pénétré dans un organisme qui n'est pas propice à son évolution et à sa maturation, et qui ne fait pas partie normalement de son cycle, ne peut se développer et atteindre l'état adulte.

Leucocorie : pupille blanche obstruée par une formation pathologique.

Panuvéite : inflammation de toutes les tuniques oculaires

Paraténique : un hôte paraténique est un hôte défavorable chez lequel les larves parasites sont en attente, sans croissance ni développement dans l'impossibilité de finir leur cycle.

Photocoagulation : procédé thérapeutique utilisé en ophtalmologie consistant à projeter sur la choroïdite, sur l'iris, sur les vaisseaux rétiniens, un faisceau lumineux intense et étroit produit par une lampe au xénon ou par un laser qui provoque la formation de foyers inflammatoires circonscrits.

Pica : perversion de l'appétit consistant en une tendance à manger des substances non comestibles.

T-Helpers Th2 : sous population de cellules T qui peuvent aider au développement de cellules cytotoxiques ou coopérer avec les cellules B pour la production d'anticorps. Les cellules Helper reconnaissent habituellement l'antigène en association avec les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité.

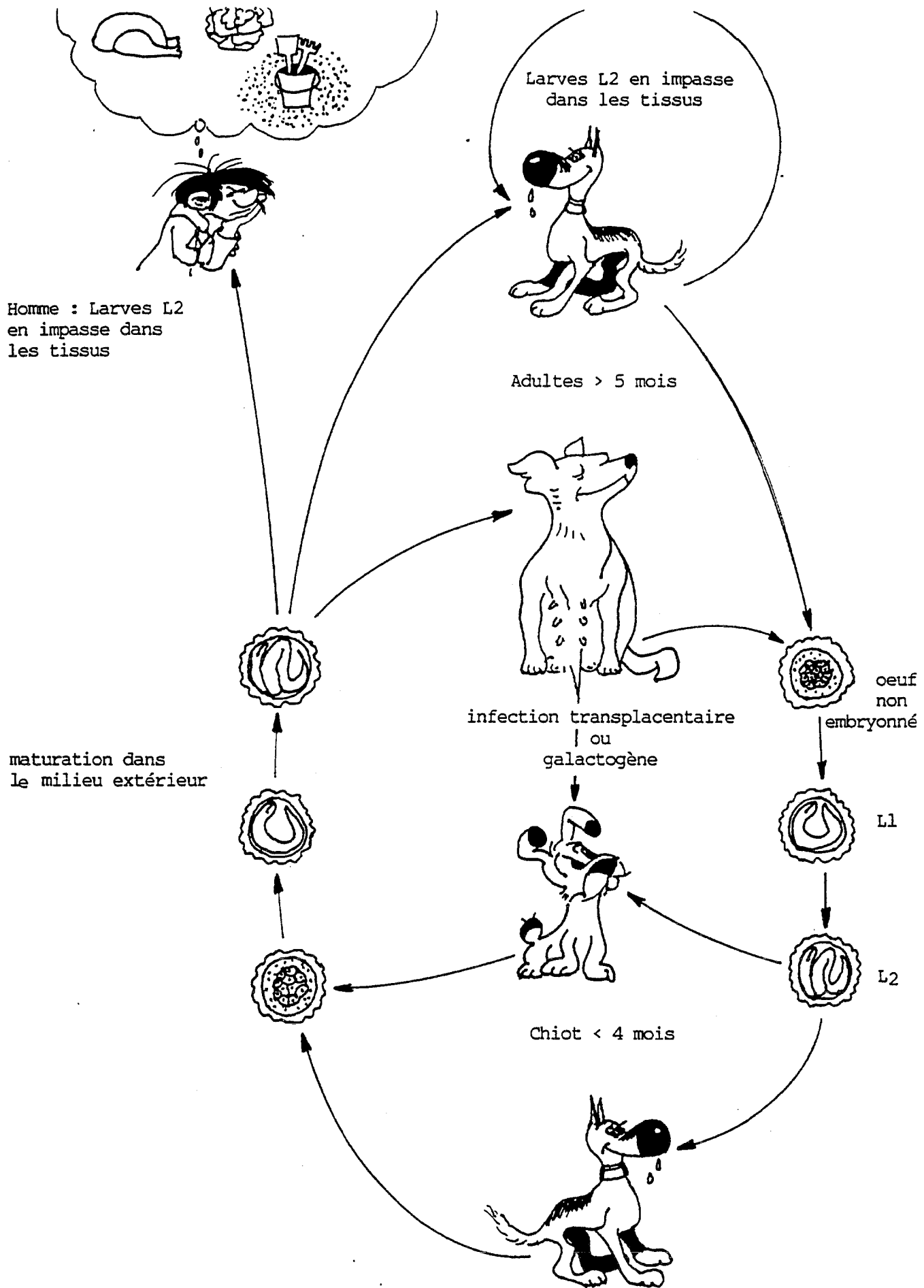
Uvéite : inflammation de l'uvée.

uvéite antérieure : inflammation de l'uvée antérieure (iris et corps ciliaire).

uvéite postérieure : inflammation limitée à l'uvée postérieure ou choroïde.

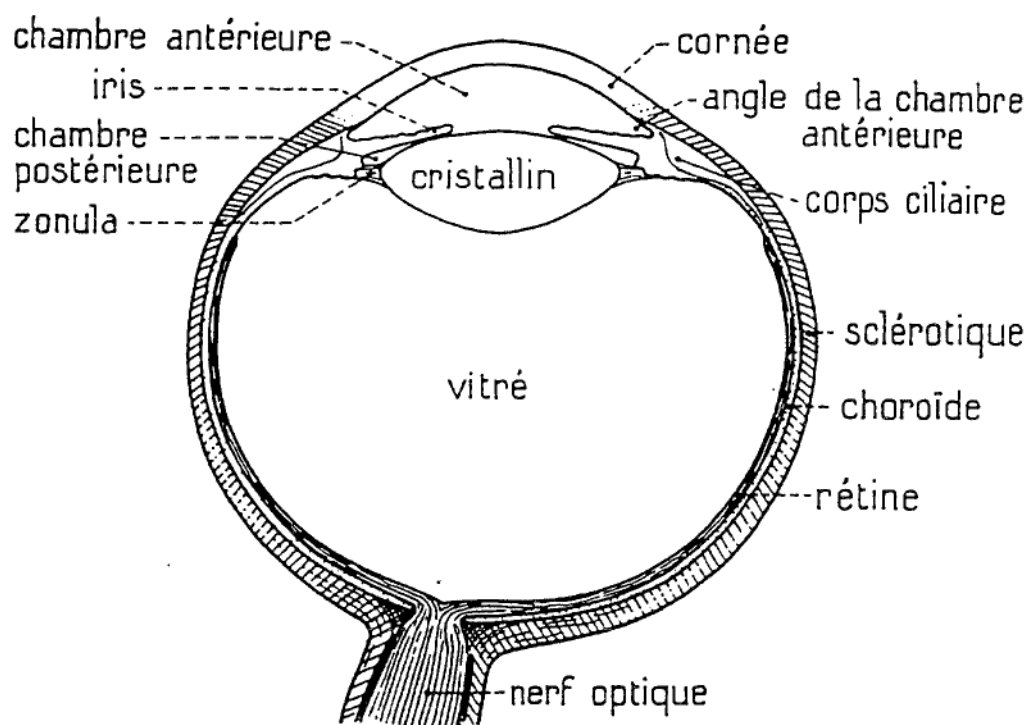
Vitrectomie : ablation partielle ou subtotale du corps vitré au moyen d'un vitréotome, soit en cas de perte de transparence, soit comme temps chirurgical lors de certains décollements de rétine graves par traction ou lors d'une issue de vitré pendant l'opération de cataracte.

Annexes



Le cycle de *Toxocara canis*

d'après L.A. Guadaloppa



Coupe schématique du globe oculaire

d'après H. Saraux . Abrégé d'ophtalmologie

CLINIQUE

TOXOCAROSE VISCERALE

- > sémiologie vaste et atypique
- > importance des phénomènes allergiques

Fièvre

70 % des cas
autres signes généraux

Symptômes pulmonaires

dyspnée asthmatiforme
infiltrat pulmonaire labile
ou tenace

Symptômes digestifs

hépatomégalie

Atteinte rhumatologique

signes cutanés

rash
érythème
oedème

atteintes neurologiques

perturbations neuropsychiques
convulsions
trouble de la conscience

myalgie, arthralgie

Bibliographie

Bibliographie

- 1 Ajana F., Lecocq P., Senneville E., Chidiac C., Mouton Y.
La toxocarose : une impasse parasitaire autochtone souvent méconnue.
Med.Mal.Infect.1993;23:107-108.
- 2 Appelmans M., Michiels J., Roquet P.,
Uvéite avec hypopion à éosinophiles par larve de nématode
Bull.Soc.Belge.Ophtalmol.1965;140:505-512.
- 3 Bass J., Mehta K., Glickman L., Blocker R., Eppes B.
Asymptomatic Toxocariasis in children : a prospective study and treatment trial.
Clin.Pediatrics.1987;26(9):441-446.
- 4 Belmont J., Irvine A., Benson W., O'Connor R.
Vitreotomy in Ocular Toxocariasis.
Arch Ophtalmol.1982;100:1912-1915.
- 5 Benzacken L., Ryckewaert M., Labalette P., Dutoit E., Ayadi A.
Toxocarose oculaire : à propos de deux observations de granulome périphérique.
Coup d'Oeil.1992;36:51-56.
- 6 Biglan A., Glickman L., Lobes L.
Serum and vitreous Toxocara antibody in nematode endophtalmitis.
Am.J.Ophtalmol.1979;88:898-901.
- 7 Brasseur G., Charlin JF., Brasseur P., Langlois J.
Toxocarose oculaire : acquisitions diagnostiques et thérapeutiques.
J.Fr.Ophtalmol.1984;7(3):221-226.
- 8 Brasseur G., Brasseur P., Charlin J.F., Hubaut D., Langlois J.
Toxocarose oculaire. Possibilités nouvelles pour le diagnostic.
Bull.Mem.Soc.Fr.Ophtalmol.1986;97:62-66.
- 9 Brunello F., Genchi C., Falagiani P.
Detection of larva-specific IgE in human toxocariasis.
Royal Society of Tropical Medecine and Hygiene.1983;77(2):279-280.
- 10 Caucanas JP., Magnaval JF., Pascal JP.
Prevalence of toxocaral disease.
The Lancet.1988;7:1049.
- 11 De Carli M., Romagnani S., Del Prete G.
Human T cell response to excretory-secretory antigens of *Toxocara canis*. A model of preferential in vitro and in vivo activation of TH2 cells. In : Toxocara and Toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.J.W.Lewis and M. Maizels ed.1993:125-132.

- 12 Dernouchamps JP., Verougstraete C., Demolder E.
Ocular toxocariasis : a presumed case of peripheral granuloma.
Int.Ophtalmol.1990;14:383-388.
- 12' De Savigny D.H.
In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigens for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans.
J.Parasitol.1975;61:781-788.
- 12'' Diallo J.S.
Syndromes de larva-migrans In : Manifestations ophtalmologiques des parasitoses ed.1985;155-161.
- 13 Dutoit E., Poirriez J., Leclercq Ph., Vernes A.
Intérêt du flubendazole dans le traitement de la toxocarose.
La Presse Médicale.1983;12:2396.
- 14 Ellis G., Pakalnis V., Worley G.
***Toxocara canis* infestation : clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children.**
Ophtalmol.1986;93(8):1032-1037.
- 15 El Matri L., Ghorbal M., Ayadi A., Bennaceur B., Triki M.F.
Localisation oculaire à *Toxocara canis* apparemment bilatérale.
J.Fr.Ophtalmol.1990;13(5):303-308.
- 16 Ehrhard T., Kernbaum S.
***Toxocara canis* et toxocarose humaine.**
Bull.Inst.Pasteur.1979;77:225-287.
- 17 Felberg N.T., Shields JA., Federman JL.
Antibody to *Toxocara canis* in the aqueous humor.
Arch.Ophtalmol.1981;99:1563-1564.
- 18 Fenoy S., Cuellar C., Aguila C., Guillen JL.
Persistence of immune response in human toxocariasis as measured by ELISA.
Int.Journ.Parasitol.1992;22(7):1037-1038.
- 19 Genchi C., Falagiani P., Riva G., Tinelli M., Brunello F., Boero M., Almagiva M.
IgE and IgG antibodies in *Toxocara canis* infection. A clinical evaluation.
Annals of Allergy.1988;61:43-46
- 20 Genchi C., Tinelli M., Brunello F., Falagiani P.
Serodiagnosis of ocular toxocariasis : a comparison of specific Ig E and IgG.
Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.1986;80:993-994.
- 21 Gillepsie S.
The epidemiology of *Toxocara canis*.
Parasitol. Today.1988;4:180-182.

- 22 Gillepsie S.
The clinical spectrum of human toxocariasis. In : *Toxocara* and Toxocariasis clinical, epidemiological and molecular perspectives. J.W.Lewis and M.Maizels ed.1993:55-61.
- 23 Glickman L.
The epidemiology of human toxocariasis. In : *Toxocara* and Toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.J.W.Lewis and M. Maizels ed.1993:3-10.
- 24 Glickman L., Cypess R., Hiles D., Gessner T.,
Toxocara-specific antibody in the serum and aqueous humor of a patient with presumed ocular and visceral toxocariasis.
Am.J.Trop.Med.Hyg.1979;28:29-35.
- 25 Glickman L., Grieve R., Lauria S., Jones D.
Serodiagnosis of ocular toxocariasis : a comparison of two antigens.
J.Clin.Pathol.1985;38:103-107.
- 26 Glickman L., Schantz P.
Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis.
Epidemiol.Reviews.1981;3:230-250.
- 27 Guadaloppa L.A.
La toxocarose : quelles issues pour une impasse ? (à propos de 3 cas au C.H.U. de Grenoble)
Thèse médecine.Grenoble.1994.
- 28 Gueglio B., Journel H., Smolik I., Pechereau A., Marjolet M.
Toxocarose oculaire : à propos d'un cas.
Bull.Soc.Franç.Parasit.1991;9(1):59-63.
- 29 Gueglio B., Marjolet M.
Les syndromes de larva migrans toxocariens : une impasse parasitaire bien cachée.
Bull.Soc.Franç.Parasit.1991;9(2):171-180.
- 30 Hagel I., Lynch R., Di Prisco M.
Ascaris reinfection of slum children : relation with the Ig E response.
Clin.Exp.Immunol.1993;94:80-83.
- 31 Hagler W.S., Pollard Z.F., Jarret W.H., Jarret W.H., Donnelly E.H.
Results of surgery for ocular *Toxocara canis*.
Ophtalmol.1981;88:1081-1086.
- 32 Hamel C.
Ig E intraoculaires et toxocarose oculaire
Thèse Medecine.Paris.1987
- 33 Hartmann C.H.G., Santais M.C., Mordelet-Dambrine M., Hamard H., Guillaumat L Parrot J.L.
Immunoglobulines E (Ig E) de l'humeur aqueuse : étude comparative avec les Ig E sériques.
Ann.d'Oculist.1977;210(2):129-139.

- 34 Hotez P.
Visceral and ocular larva migrans.
Sem Neurol.1993;13(2):175-179.
- 35 Huminer D., Keith S., Groskopf I., Pietrushka D., Kremer I., Schantz P., Pitlik S.
Seroepidemiologic study of toxocariasis and strongyloidiasis in institutionalized mentally retarded adults.
Am.J.Trop.Med.Hyg.1992;46(3):278-281.
- 36 Imbert P., V erin Ph.
Gravit  de la toxocarose -traitement.
Bull.Soc.Opht.France.1989;10:1179-1180.
- 37 Jacquier P., Gottstein B., Stingelin Y., Eckert J.
Immunodiagnosis of toxocarosis in humans : Evaluation of a New Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit.
J.Clin.Microbiol.1991;29(9):1831-1835.
- 38 Kerr-Muir M.G.
Toxocara canis and human health.
B.M.J.1994;309:5-6.
- 39 Khaldi F., Zaidi T., Khiari S., Matri L., Bennaceur B.
Toxocarose oculaire. A propos d'un cas.
Ann.Pédiatr.1990;37(3):185-188.
- 40 Korenaga M., Tada I.
The role of I15 in the Immune Responses to Nematodes in Rodents.
Parasitol.Today.1994;10(6):234-236.
- 41 Lapi re J., Petithory J., Tourte-Schaefer C., Tran Vinh Hien., Holler C., Lebas Saison E., Rondier J., Bouchacourt P.
Premier cas de toxocarose humaine(?)   localisation circulatoire de vers adultes, dépistée par la présence d'oeufs embryonnés   l'hémolyse concentration.
Ann.Parasitol.Hum.Comp.1991;66(2):62-68.
- 42 Lee Wan W., Cano MR., Pince KJ., Green RL.
Echographic characteristics of ocular toxocariasis.
Ophtalmol.1991;98(1):28-32.
- 43 Liotet S., Bloch-Michel E., Petithory J-C., Batellier L., Chaumeil C.
Biological modifications of the vitreous in intraocular parasitosis : preliminar study.
Int. Ophtalmology.1992;16:75-80.
- 44 Lloyd S.
Toxocara canis : The dog. In : *Toxocara and toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.* J.W.Lewis and M.Maizels ed. 1993:11-24.

- 45 Logar J., Kraut A., Likap M.
Toxocara antibodies in patients with visceral or ocular disorder in Slovenia.
Infection.1993;21(1):27-29.
- 46 Lyness RW., Earley OE., Logan WC., Archer DB.
Ocular larva migrans : a case report.
Brit.J.Opht.1987;71:396-401.
- 47 Magnaval J.F., Carriere J.P.
Toxocara et toxocarose humaine
Soumis à parution 1994
- 48 Magnaval JF., Fabre P., Charlet JP., De Larrard B
Application of the Western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis.
Parasitol.Res.1991;77:697-702.
- 49 Magnaval JF., Fabre R., Maurières P., Charlet JP., De Larrard B.
Evaluation of an immunoenzymatic assay detecting specific anti-toxocara immunoglobulin E for diagnosis and posttreatment follow-up of human toxocariasis.
J.Clin.Microbiol.1992;30(9):2269-2274.
- 50 Magnaval JF., Charlet JP.
Efficacité comparée du thiabendazole et du mébendazole dans le traitement de la toxocarose.
Thérapie.1987;42:541-544.
- 51 Magnaval JF.
La toxocarose.
Feuillets de biologie.1991;32:57-61.
- 52 Magnaval JF., Charlet JP., De Larrard B.
Etude double aveugle de l'efficacité du mébendazole dans les formes mineures de la toxocarose humaine
Thérapie.1992;47:145-148.
- 53 Magnaval JF., Carriere JP.
Toxocariasis in the midi-Pyrénées region. In : *Toxocara* and toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.J.W.Lewis and M.Maizels ed.1993:63-69.
- 54 Magnaval JF., Michault A., Calon N., Charlet JP.
Epidemiology of human toxocariasis in Reunion island
Trans.R.Soc.Trop.Med.Hyg.1994
- 55 Maguire A., Zarbin M., Connor T., Justin J.
Ocular penetration of thiabendazole.
Arch.Ophtalmo.1990;108:1675.
- 56 Maghire A., Green R., Michels R., Erozan Y.
Recovery of intraocular *Toxocara canis* by pars plana vitrectomy.
Ophtalmol.1990;97(5):675-680.

- 57 Mahdi NK., Ali HA.
Toxocara eggs in the soil of public places and schools in Basrah, Iraq.
Annals of tropical medicine and parasitology.1993;87(2):201-205.
- 58 Maitz HM., Kleinstein RN., Federico D., Wayne J.
Estimated prevalence of ocular toxoplasmosis and toxocariasis in Alabama.
J.Infect.Dis.1987;156:414.
- 59 Molk R.
Ocular Toxocariasis: A review of the literature.
Ann Ophtalmol.1983;15:217-231.
- 60 Nagakura K., Tachibana H., Kaneda Y., Kato.Y.
Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken.
J.Inf.Dis.1989;160:735-736.
- 61 Oliver ST., Cousland G., Smith HV., Girdwood RWA.
Antibody isotype reactivity, isotype specific serodiagnosis and IgE antibody specificity in humans infected with *Toxocara canis* larvae.
Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.1986;80:985
- 62 Petithory JC., Ardoin F.
Prévalence en France et en Italie de *Toxocara canis* et autres helminthes chez le chien en 1987-1989.
Bull.Soc.Fr.Parasitol.1990;8(2):257-266.
- 63 Petithory JC., Beddok A., Quedoc M.
Zoonoses d'origine ascaridienne : les syndromes de Larva migrans viscéral.
Bull.Acad.Natle.Med.1994;178(4):635-647.
- 64 Petithory JC., Chaumeil C., Liotet S., Rosseau M., Bisognani A.C.
Immunological studies on ocular larva migrans. In : *Toxocara* and toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.J.W.Lewis and M.Maizels ed.1993:81-89.
- 65 Petithory JC., De Loye J., Beddok A., Bisognani AC.
Données épidémiologiques sur le syndrome de larva migrans viscéral.
Bull.Soc.Franç.Parasitol.1993;11(2):209-216.
- 66 Petithory JC., Liotet S., Chaumeil C., Moisan F., Beddok A., Batellier L., Brumpt LC.
Le syndrome de larva migrans oculaire.
Revue française des Laboratoires.1990;207:69-80
- 67 Petithory JC.
Diagnostic immunologique du syndrome de larva migrans oculaire.
Ophtalmologie.1990;4:298-300.
- 68 Pirraud M.
Toxocarose humaine : application d'une technique ELISA à une enquête épidémiologique dans la région grenobloise.
Thèse médecine.Grenoble.1990.

- 69 Pollard Z.F., Jarret W.H., Hagler W.S., Allain D.S., Schantz P.
ELISA for diagnosis of ocular toxocariasis.
Ophthalmol.1979;86:743-749.
- 70 Rasmussen LN., Dirdal M., Birkebaek NH.
"Covert toxocariasis" in a child treated with low-dose diethylcarbamazine.
Acta paediatr.1993;82:116-118.
- 71 Recco P., Buscail L., Roques C., Ribet A., Seguela JP.
Faut-il traiter les syndromes de larva migrans par les antihelminthiques ? résultats d'un suivi de 70 patients.
Bull.Soc.Franç.Parasitol.1988;6(1):69-72.
- 72 Risse JF., Boissonnot M., Robert MF., Dufier JL.
Pseudogliome inflammatoire par *Toxocara canis*.(étude anatomoclinique d'une observation)
Bull.Soc.Opht.France.1985;10:1089-1092.
- 73 Rockey JH., Donnelly JJ., Stomberg BE., Laties AM., Soulsby E.JL.
Immunopathology of Ascarid infection of the eye.
Arch.Ophthalmol.1981;99:1831-1840.
- 74 Romeu J., Roig J., Bada JL., Riera C., Munoz C.
Adult human toxocariasis acquired by eating raw snails.
Journ.Inf.Dis.1991;164:438.
- 75 Salem G., Schantz P.
Toxocaral visceral larva migrans after ingestion of raw lamb liver.
Clin.Infect.Dis.1992;15:743-744.
- 76 Scaglia M., Gatti S., Bruno A., Cevini C., Chichino G., Magnani B., Brustia R.
Larva migrans viscerale et oculaire : étude épidémiologique, clinique et immunologique portant sur 20 cas,adultes et enfants.
Bull.Soc.Path.Exo.1989;82:410-421.
- 77 Sceppek S., Moqbel R., Lindau M.
Compound Exocytosis and Cumulative Degranulation by Eosinophils and their Role in Parasite Killing.
Parasitol.Today.1994;10(7):276-278.
- 78 Schantz P.
***Toxocara larva migrans* now.**
Am.J.Trop.Med.Hyg.1989;41(3):21-34
- 79 Schantz P., Meyer D., Glickman L.
Clinical, serologic, and epidemiologic characteristics of ocular toxocariasis.
Am.J.Trop.Med.Hyg.1979:24-28.
- 80 Sebban C., May T.
Toxocarose ou syndrome de larva migrans.
Infectiologie du praticien.1993;8/9:216-219..

- 81 Sharkey JA., Mc Kay PS.
Ocular toxocariasis in a patient with repeatedly negative ELISA titre to *Toxocara canis*.
British Journal of Ophthalmology.1993;77:253-254.
- 82 Shields JA., Lerner HA., Felberg NT.
Aqueous cytology and enzymes in nematode endophtalmitis.
Am.Journ.Ophthalmol.1977;84(3):319-322.
- 83 Small KW., Mc Cuen BW., Dejuan E., Machemer R.
Surgical management of retinal traction caused by toxocariasis.
American Journal of Ophthalmology.1989;108:10-14.
- 84 Smith.H.V.
Antibody reactivity in human toxocariasis. In : *Toxocara* and toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives.J.W.Lewis and M.Maizels ed.1993:91-109.
- 85 Smolik I., Gueglio B., Pechereau A., Quéré MA., Marjolet M.
Réaction ELISA par antigènes homologues à *Toxocara canis* dans l'humeur aqueuse.
Ophthalmol.1993;7:74-75.
- 86 Sobota K., Kotuliakova O., Krcmery V.
Our experiences in the clinic and treatment of larval toxocarosis.
Helminthologia.1988;25:61-67.
- 87 Speiser F., Gottstein B
A collaborative study on larval excretory/secretory antigens of *Toxocara canis* for the immunodiagnosis of human toxocariasis.
Acta Tropica.1984;41:361-372.
- 88 Stürchler D., Weiss N., Gassner M.
Transmission of toxocariasis.
Journ.Inf.Diseases.1990;162:571.
- 89 Tabare E., Segal A., Durand MM., Toubas D., Ducasse A.
A propos d'un cas de toxocarose oculaire.
Bull.Soc.Opht.France.1991;3:287-289.
- 90 Taylor MR., O'Connor P., Keane CT., Mulvihill E., Holland C.
The extended spectrum of toxocaral disease.
The Lancet.1988:692.
- 91 Van Knapen F., Buijs J., Kortbeek LM., Ljungström I.
Larva migrans syndrome : toxocara ,ascaris ,or both ?
The Lancet.1992;340:
- 92 Van Knapen F., Buijs J.
Diagnosis of *Toxocara* infection. In : *Toxocara* and Toxocariasis : clinical, epidemiological and molecular perspectives. J.W.Lewis and M.Maizels ed.1993:49-53.

- 93 Van Nerom PR., Gaudy F., Verstappen A., Carlier Y.
Diagnostic différentiel entre rétinoblastome et toxocarose oculaire.
J.Fr.Ophtalmol.1987;10(4):279-282.
- 94 Vinciguerra P., Carlevaro G., Spallone A.
le granulome choroïdien périphérique secondaire à une toxocarose oculaire
Bull.Mem.Soc.Fr.Ophtalmol.1986;97:67-70.
- 95 Watzke RC., Oaks JA., Folk JC
***Toxocara canis* infection of the eye : correlation of clinical observations with developing pathology in the primate model.**
Arch.Ophtalmol.1984;102:282-291.
- 96 Wilder H.C.
Nematode endophtalmitis.
Am.Acad.Ophtalmol.Otolaryngol.1950;55:99-109.
- 97 Wilkinson C.P.
Ocular toxocariasis.
Retina.1989;2:575-582.
- 98 Windelborg Nielsen P., Lind P., Hansen B., Reimert C.M., Nansen P., Schiøtz P.O.
Immune responses to nematode exoantigens : sensitizing antibodies and basophil histamine release.
Allergy.1994;49:427-434.
- 99 Zinkham WH.
Visceral larva migrans. A review and reassessment indicating two forms of clinical expression : visceral and ocular.
Am.J.Dis.Child.1978;132:627-633.
- 100 Zygulska-Mach H., Krukar-Baster K., Ziobrowski S.
Ocular toxocariasis in children and youth.
Documenta Ophtalm.1993;84:145-154.
- 101 Zygulska-Mach H., Ziobrowski S., Ciechanowska A., Kornacki B.
Parasitic uveitis induced by *Toxocara canis*.
Bull.Mem.Soc.Fr.Ophtalmol.1986;97:395-397.

Table des matières

Table des matières

<i>Introduction</i>	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	2
I. le parasite	2
I.1 Présentation du parasite	
I.2 <i>Toxocara canis</i> et son cycle	
I.3 Le réservoir des parasites	
I.4 Contamination humaine	
II. Epidémiologie	4
II.1 Facteurs de risque	
II.2 Séroprévalence	
II.3 Prévalence de la toxocarose oculaire	
II.4 Caractères épidémiologiques particuliers des LMO	
III. Physiopathologie	7
IV. Clinique	9
IV.1 Signes d'appels	
IV.2 Les atteintes de l'oeil	
IV.2.1 Le granulome	
IV.2.2 L'uvéite chronique	
IV.2.3 L'endophtalmie diffuse	
IV.2.4 Autres formes cliniques	
V. Diagnostic	12
V.1 Diagnostic biologique	
V.1.1 Sérum	
V.1.2 Humeur aqueuse	
V.2 Imagerie	
V.2.1 Echographie	
V.2.2 Angiographie rétinienne	
V.3 Diagnostic de certitude = étude histopathologique	

V.3.1 Les lésions	
V.3.2 Le diagnostic d'espèce des larves	
V.4 Diagnostic différentiel	
V.4.1 Le rétinoblastome	
V.4.2 La toxoplasmose	
V.4.3 Autres	
VI. Traitement	18
VI.1 Traitement médical	
VI.1.1 Corticothérapie	
VI.1.2 Traitement antihelminthique	
VI.2 Chirurgie	
VI.2.1 Photocoagulation au laser	
VI.2.2 Cryothérapie	
VI.2.3 Vitrectomie	
VII. Prophylaxie	21
 <i>Partie expérimentale</i>	 22
I. Matériel et méthodes	22
I.1 Sérums	
I.2 Antigènes	
I.2.1 Les différents antigènes de <i>Toxocara canis</i>	
I.2.2 Préparation des antigènes	
I.3 Plaques ELISA	
I.4 Dosage des Ig G spécifiques	
I.4.1 Principe	
I.4.2 Matériel	
I.4.3 Mode opératoire	
I.4.4 Interprétation des résultats	
I.5 Dosage des Ig E totales	
I.5.1 Principe	
I.5.2 Calibration	
I.5.3 Matériel	
I.5.4 Mode opératoire	
I.5.5 Calcul des résultats	

I.5.6 Sensibilité et spécificité	
I.6 Dosage des Ig E spécifiques	
I.6.1 Matériel	
I.6.2 Mode opératoire	
II. Résultats	29
II.1 Mise au point du dosage des Ig E spécifiques	
II.2 Détermination des seuils de positivité	
II.2.1 Dosage des Ig G spécifiques	
II.2.2 Dosage des Ig E spécifiques	
II.3 Comparaison des deux techniques de dosage	
II.3.1 Test d'indépendance de deux variables quantitatives : Ig G et Ig E spécifiques	
II.3.2 Test d'indépendance de deux variables qualitatives : positivité et négativité des Ig G et Ig E spécifiques	
II.4 Analyse des résultats après étude des dossiers correspondants	
II.4.1 Patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose a été retenu	
II.4.2 Patients pour lesquels le diagnostic de toxocarose n'a pas été retenu	
II.4.3 Résultats donnés par les Ig G spécifiques	
II.4.4 Résultats donnés par les Ig E spécifiques	
II.4.5 Résultats donnés par une interprétation globale des deux sérologies	
II.5 Cas particuliers	
II.5.1 Malades d'ophtalmologie	
II.5.2 Autres malades	
III. Discussion	55
 <i>Conclusion</i>	 59
 <i>Glossaire</i>	 61

<i>Annexes</i>	63
<i>Bibliographie</i>	66
<i>Table des matières</i>	75

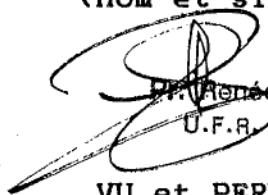
CONCLUSIONS

Mémoire soutenu par M.^{me} Chamel épouse Hossuz

La toxocarose est une parasitose à ne pas méconnaître et qui pose des problèmes tant par la multiplicité des tableaux cliniques observés, que par l'absence de diagnostic de certitude.

Les réactions sérologiques sont à la base du diagnostic biologique, comme pour d'autres pathologies, la toxoplasmose par exemple, où la mise en évidence du parasite ne peut être qu'exceptionnellement réalisée. Mais, à la différence de la toxoplasmose où la cinétique des anticorps est bien connue, résultat d'une brève parasitémie, les larves de Toxocara, en impasse dans l'organisme, semblent pouvoir stimuler longtemps les défenses immunitaires. Si la symptomatologie des syndromes de larva-migrans viscérale est généralement pauvre, la gravité des lésions au cours des larva-migrans oculaires justifie la mise en oeuvre d'un diagnostic rapide et performant. Cet objectif ambitieux n'a pu être atteint en raison d'une part de l'ampleur des améliorations à apporter aux méthodes usuelles et de la faiblesse temporaire

Le Président du Jury
(nom et signature)


M. Renée GRILLOT
U.F.R. Pharmacie

VU le Doyen
de la Faculté de Pharmacie

GRENOBLE, le 2/3/95


J. ROCHAT

VU et PERMIS D'IMPRIMER

GRENOBLE, le 10.03.95

Le PRESIDENT DE L'UNIVERSITE
J. FOURIER - GRENOBLE 1

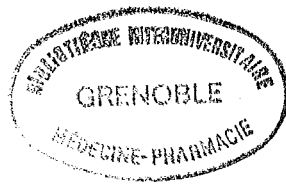
Président de l'Université
Joseph FOURIER - Grenoble 1


Daniel BLOCH

de recrutement de patients souffrant de toxocarose oculaire. Cependant, les résultats obtenus montrent que la confrontation des deux sérologies Ig G et Ig E semble être utile pour différencier une infection ancienne d'une infection récente, la positivité des deux étant bien en faveur d'une infection en cours à *Toxocara canis*.

Il sera intéressant dans l'avenir de continuer cette étude pour renforcer ces arguments à partir d'autres cas de toxocarose.

Un autre aspect à envisager, sera celui d'une étude soignée des patients, ayant une sérologie positive avec les deux techniques, patient atteints d'une uvéite non étiquetée jusqu'à présent, afin d'y déceler peut être une larva-migrans oculaire et de découvrir ainsi une fréquence sous estimée de cette pathologie.



CHAMEL Véronique

Sérologie de la toxocarose : intérêt du dosage en parallèle des Ig G et Ig E spécifiques.

Mémoire du DES de biologie médicale - Grenoble 1995

Résumé

La toxocarose est une parasitose qu'il ne faut pas méconnaître et qui pose des problèmes tant par la multiplicité des tableaux cliniques observés, que par l'absence de diagnostic de certitude. Les réactions sérologiques sont à la base du diagnostic biologique. La gravité des lésions, en particulier au cours des larva-migrans oculaires justifie la mise en oeuvre d'un diagnostic rapide et performant. Nous avons mis au point une méthode ELISA pour la détection des Ig E spécifiques. Nous avons montré que cette technique n'est pas corrélée aux Ig G. La confrontation des deux techniques semble très intéressante pour le diagnostic d'infection aiguë à *Toxocara* : en effet un résultat positif en Ig G a une valeur prédictive positive de 34 % et une positivité des deux techniques, Ig G et Ig E a une valeur prédictive positive de 90 %.

Mots clés

Toxocarose - Larva-migrans oculaire - Sérologie - Dosage des Ig E spécifiques

Jury

Président : Madame le Professeur Grillot

Membres : Monsieur le Professeur Micoud

Madame le Docteur Gonzalvez

Monsieur le Docteur Picot
