

TD 93.4

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP - DAKAR

ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
E. I. S. M. V.

ANNEE 1993



N° 04

Contribution à l'Etude du Diagnostic Sérologique de la Dirofilariose canine à *Dirofilaria immitis* par l'ELISA



THESE

présentée et soutenue publiquement le 31 Mars 1993
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE
(DIPLÔME D'ETAT)

par

Fernand Dieudonné BIBALOU

né le 16 Juin 1959 à MOUNDOU (TCHAD)

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES
VETERINAIRES

Président du Jury : Monsieur François DIENG
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

Directeur et Rapporteur de Thèse : Monsieur Louis Joseph PANGUI
Maître de Conférences Agrégé à l'EISMV de Dakar

Membres : Monsieur Kondi AGBA
Maître de Conférences Agrégé à l'EISMV de Dakar

Monsieur Omar NDIR
Maître de Conférences Agrégé à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

=====

I. - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1 - ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kondi	AGBA	Maître de Conférences Agrégé
Jacques	ALAMARGOT	Assistant
Brahima	KABOUL	Moniteur

2 - CHIRURGIE-REPRODUCTION

Papa El Hassane	DIOP	Maître de Conférences Agrégé
Kalidou	BA	Moniteur
Latyr	FAYE	Docteur Vétérinaire

3 - ECONOMIE - GESTION

Hélène	FOUCHER	Assistante
--------	---------	------------

4 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES

ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAQA)

Malang	SEYDI	Maître de Conférences Agrégé
Adama Abdoulaye	THIAM	Moniteur
Papa Ndary	NIANG	Docteur Vétérinaire

5 - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Justin Ayayi	AKAKPO	Professeur titulaire
Jean	OUDAR	Professeur titulaire
Rianatou (Mme)	ALAMBEDJI	Assistante
Komi A.E.	GOGOVR	Moniteur
Souaïbou	FAROUGOU	Docteur Vétérinaire

6. - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

Louis Joseph	PANGUI	Maître de Conférences Agrégé
Papa Ndéné	DIOUF	Moniteur
Bassirou	BONFOH	Docteur Vétérinaire

7. - PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE
CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Yamba	KABORET	Maître -Assistant
Pierre	DECONINCK	Assistant
Iamboni B.	BANGUE	Moniteur

8. - PHARMACIE - TOXICOLOGIE

François Adébayo	ABIOLA	Professeur titulaire
Ismaila	KANE	Moniteur

9. - PHYSIQUE - THERAPEUTIQUE - PHARMACODYNAMIE

Alassane	SERE	Professeur titulaire
Moussa	ASSANE	Maître de Conférences Agrégé
Kossi	MABALO	Moniteur

10 - PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme	SANADOGO	Professeur titulaire
Désiré Marie A.	BELEMSAGA	Moniteur
Baba Traoré	FALL	Docteur Vétérinaire

11 - ZOOTECHEMIE - ALIMENTATION

Gbeukoh Pafou	GONGNET	Maître-Assistant
Ayao	MISSOHO	Assistant
Souleymane	SAKANDÉ	Moniteur

PERSONNEL VACATAIRE (prévu)

- BIOPHYSIQUE

René NDOYE
Professeur titulaire
Faculté de Médecine et de Pharmacie
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

Alain LECOMTE
Maître de Conférences Associé
Faculté de Médecine et de Pharmacie
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

Sylvie (Mme) GASSAMA
Maître de Conférences Agrégée
Faculté de Médecine et de Pharmacie
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

- BOTANIQUE - AGROPEDOLOGIE

Antoine NONGONIERMA
Professeur
IFAN - Institut Ch. Anta DIOP
Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

- PATHOLOGIE DU BETAIL

Magatte NDIAYE
Docteur Vétérinaire - Chercheur
Laboratoire de Recherches
Vétérinaires de DAKAR

- ECONOMIE

Cheikh LY
Docteur Vétérinaire - Chercheur
FAO - BANJUL

- AGRO-PEDOLOGIE

Alicune	DIAGNE	Docteur Ingénieur Département "Sciences des Sols" Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie - THIES.
---------	--------	--

- SOCIOLOGIE RURALE

Goussouby	TOURE	Sociologue Centre de suivi Ecologique Ministère du Développement Rural
-----------	-------	--

III - PERSONNEL EN MISSION (prévu)

- PARASITOLOGIE

Ph.	DORCHIES	Professeur ENV - TOULOUSE (France)
-----	----------	---------------------------------------

M.	KILANI	Professeur ENMV SIDI THABET (Tunisie)
----	--------	--

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE SPECIALE

G.	VANHAVERBEKE	Professeur ENV - TOULOUSE (France)
----	--------------	---------------------------------------

- PATHOLOGIE DES EQUIDES ET CARNIVORES

A.	CHABCHOUB	Professeur ENMV SIDI THABET (Tunisie)
----	-----------	--

- ZOOTECHEMIE - ALIMENTATION

A. BENYOUNES
Professeur
ENMV - SIDI THABET (Tunisie)

- ALIMENTATION

R. PARIGI-BINI
Professeur
Université de PADOUE (Italie)

R. GUZZINATI
Docteur
Université de PADOUE (Italie)

- CHIRURGIE

A. CAZIEUX
Professeur
ENV - TOULOUSE (France)

- OBSTETRIQUE

A. MAZOUZ
Maître-Assistant
Institut Agronomique et Vétérinaire
HASSAN II (Rabat)

- DENREOLOGIE

ROZIER
Professeur
ENV - ALFORT (France)

A. ETTRIQI
Professeur
ENMV SIDI THABET (Tunisie)

- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

P. BENARD
Professeur
ENV - TOULOUSE (France)

- PHARMACIE

J.D. PUYT
Professeur
ENV - NANTES (France)

- TOXICOLOGIE

G. SOLDANI
Professeur
Université de PISE (Italie)

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL

- A mes parents BALBINE BIRI et Philippe BIBALOU
Votre soutien ne m'a jamais fait défaut -
Ce travail vous revient - Puisse-t-il vous soulager des efforts patients dont vous avez fait preuve et vous témoigner toute ma profonde gratitude -

- A mes grands oncles : BOUSSOUKOU - BOUMBA et MAGANGA BOUMBA.
Que ce travail illustre la confiance que vous avez toujours eue à mon égard.

Profonde affection -

- A mes Oncles et Tantes -
Pour votre soutien constant, trouvez ici toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude -
- A mes frères et soeurs
- A mes cousins et cousines
- A mes Neveux et Nièces.

Nous formons une famille soudée. Que notre solidarité et notre amour fraternel nous aident à regarder davantage dans la même direction.

Tous mes encouragements.

- A mon fils K. Potain BIBALOU BOULLINGUI -
Puisse ce travail t'inspirer à jamais -

Je t'aime -

- A Alice KOADJO
En souvenir des années passées ensemble -

- A la famille MPASSY - MUBA -
Pour votre générosité, souvenirs indélébiles -
- A Théodore MOUKILA -
Pour ton rôle de tuteur que tu as su mener à bon port -
Je te remercie infiniment -
- A Mr et Mme MABIKA -
Vous m'avez accueilli avec une grande simplicité dans votre
famille -
Fraternelles Considérations -
- A Mr Edouard MOUKENGUE -
Sincères remerciements -
- A Joceline Antoinette Patricia PURUHENCE -
Avec toi j'ai vécu des moments inoubliables d'une vie familiale -
Grande reconnaissance et profonde affection -
- A Robert MBIAKE
J'ai trouvé ce que je n'espérai pas -
Puisse ce travail renforcer nos liens -
- A Victor MOUELE et Barthélémy BIODEDET -
Pour la complicité et la parfaite entente qui a su exister
entre nous -
Ce travail est aussi le vôtre -
- Au Docteur Toto NGAMBANGO René -
Pour les durs moments passés ensemble - La lutte continue -
Fraternelles considérations -
- A Daniel DIYOMBO et Thierry BISSOMBOLO KAYA
Nos parcours universitaires se sont séparés mais je pense
toujours à vous.

- A Honore TABUNA et F. Breitzer MOUNZEO
Pour cette profonde et sincère amitié.
 - Aux Docteurs: IBARA, OPOYE, GUIMBI, MBOU, MATOUTY,
ELENGA, NDZEMBA J. Jacques...
Pour une franche collaboration.
 - A BAHOUA, NGALI, KONDJI, ALAMBOU, NADINE, Charlotte TCHAKOUTE,
Yandou BA, MVOUMBI, NZAMBA, BIKOUMOU, KOULENGANA -
Merci pour la confiance et le soutien.
 - A DOUMAI, TAIGUE, AGBOHON, BOKA, BANGUE, MEBENGA.....
Pour avoir partagé ensemble les joies et les peines du sérieux
chemin de l'enseignement supérieur -
 - A Mmes DIAGNE & SEYE
 - A Mme SAMB
- À tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à l'élabora-
tion de ce travail.
- A tous les Diplômés du CONGO au SENEGAL.
 - A toute la colonie Congolaise.
 - A la 20ème promotion François DIENG
 - A Monsieur le Député Maire de la ville de Dakar
Mamadou DIOP
Soyez rassurés de ma profonde gratitude et de ma sincère
reconnaissance.
 - Au CONGO, mon beau pays que j'aime -
 - Au SENEGAL, pays hôte.

/-) NOS MAITRES ET JUGES

- A Monsieur François D I E N G
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie
de DAKAR.

Veillez trouver ici nos remerciements pour l'honneur
que vous nous faites en acceptant de présider notre
jury de thèse.

Hommage respectueux.

- A Monsieur Louis Joseph P A N G U I
Maître de Conférences agrégé à l'E.I.S.M.V de DAKAR.

Vous nous avez inspiré ce sujet de thèse et vous nous
avez guidé dans l'élaboration de ce travail.

Trouvez ici, l'humble témoignage du grand intérêt que
votre enseignement lumineux a éveillé en nous.

- A Monsieur Charles Kondi A G B A
Maître de Conférences agrégé à l'E.I.S.M.V de DAKAR.

Nous avons eu la chance de recevoir votre enseignement
que nous avons apprécié pour sa haute tenue.

Nous sommes heureux de votre présence dans notre jury
de thèse et de pouvoir aussi vous exprimer notre admira-
tion.

- A Monsieur Omar N D I R.
Maître de Conférences agrégé à la Faculté de Médecine
et de Pharmacie de DAKAR.

Pour avoir accepté avec spontanéité de faire partie de
notre jury de thèse et pour votre sens très humain les
Relations, que vous avez toujours manifesté.

Nous vous adressons notre profonde et sincère reconnais-
sance.

**"Par délibération, la Faculté et l'Ecole ont
décidé que les opinions émises dans les dissertations qui
leur seront présentées, doivent être considérées comme
propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner
aucune approbation ni improbation".**

I N T R O D U C T I O N

Les culicidés communément appelés "moustiques" sont des sources de nombreuses maladies transmissibles à l'homme et à diverses espèces animales.

Ils sont également à l'origine des filarioses telles que :

- La filariose humaine
- La filariose canine.

C'est sur cette dernière que nous allons nous appesantir car elle constitue l'objet de notre étude.

La Dirofilariose canine encore appelée filariose cardio-pulmonaire est une helminthose non contagieuse, affectant particulièrement les canidés, due à la présence dans le coeur droit et dans l'artère pulmonaire, d'une filaire appelée : *Dirofilaria immitis*. C'est une grave maladie qui engendre une insuffisance cardiaque globale, handicape fortement les chiens qui deviennent incapables de rendre des services escomptés et conduit le plus souvent à la mort.

Les chiens non traités deviennent des sources intarissables de parasites et hypothèquent ainsi la santé de leurs congénères et l'homme par extension.

Le dépistage de la Dirofilariose microfilarémique est simple et aisé par contre il est difficile dans la Dirofilariose amicrofilarémique - OTTO, G.F (45) a montré que 10 à 67 % des chiens infestés par des parasites adultes n'ont pas de microfilaires dans le sang.

La détection de tels cas passe forcément par l'utilisation des tests de diagnostics indirects qui font appel à la recherche des témoins d'infestation.

Plusieurs techniques employées ont des résultats mitigés en raison des réactions croisées avec d'autres infestations parasitaires.

Avec la découverte du test ELISA, des résultats meilleurs s'obtiennent car c'est une méthode de dosage immuno-enzymatique associant la sensibilité et la spécificité des réactions immuno-logique et enzymatique. C'est ce qui nous conduit à utiliser ce test ELISA dans la réalisation de notre étude.

Notre travail est conçu en deux parties :

- la **première partie** consiste à faire la connaissance de Difteriariose canine à partir des données bibliographiques

- La **deuxième partie** est consacrée à l'étude expérimentale basée sur le diagnostic sérologique de la filariose cardio-vasculaire par la technique ELISA.

-- PREMIERE PARTIE --

LA DIROFILARIOSE CANINE
DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES /

./.

CHAPITRE I : ETUDE DU PARASITE

1. TAXONOMIE

Dirofilaria immitis est une filaire qui appartient à l'ordre des MYOSYRINGATA, au sous ordre des FILAROIDEA : nématodes polymaires, à corps long et filiforme, à la famille des ONCHOCERCIDES et à la sous famille des DIROFILARIINES.

Au sein de ce groupe, le genre DIROFILARIA se distingue par les caractères suivants :

- cuticule lisse ou seulement striée transversalement mais dépourvue de bosselures ;
- papilles céphaliques très peu marquées ;
- absence d'anneau chitineux bien marqué en avant de l'oesophage ;
- division de l'oesophage peu distincte ;
- queue du mâle spiralée, courte et obtuse, portant deux petites ailes caudales et pourvue de papilles pré-cloacales saillantes et pédonculées et, de papilles post-cloacales plus petites - spicules dissemblables ;
- femelles à queue courte et arrondie ; ouverture vulvaire située en arrière de l'oesophage.

2. MORPHOLOGIE DU PARASITE

2.1 Description du ver adulte

Dirofilaria immitis (figures 1 et 2) est une filaire allongée de couleur blanchâtre, ressemblant à une corde à violon.

Le mâle mesure 10 à 19 cm de long sur 600 à 900 μ de diamètre et la femelle 18 à 30 cm sur 1 à 8 mm. Dans les deux sexes, la bouche est entourée de très petites papilles en nombre et disposition variables selon WEBBER (58).

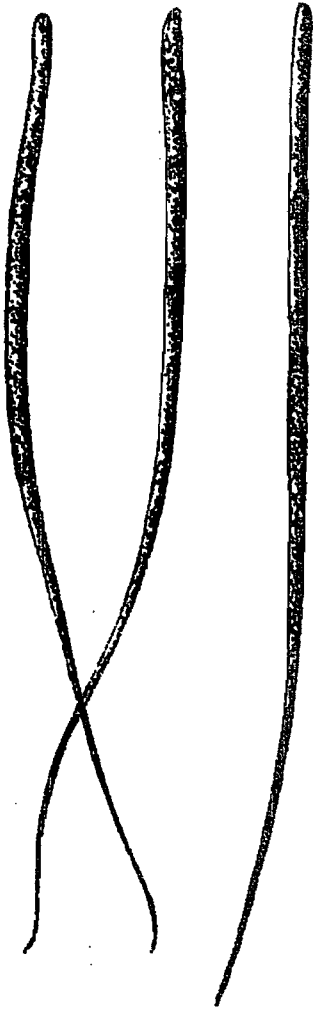


FIGURE N° 3 : MICROFILAIRES DE DIROFILARIA IMMITIS
IMMITIS (X 300) D'APRES A. RAILLIET).
NOTER L'ABSENCE DE GAINÉ ET LA QUEUE
TRES EFFILEE DES MICROFILAIRES DU
GENRE DIROFILARIA.

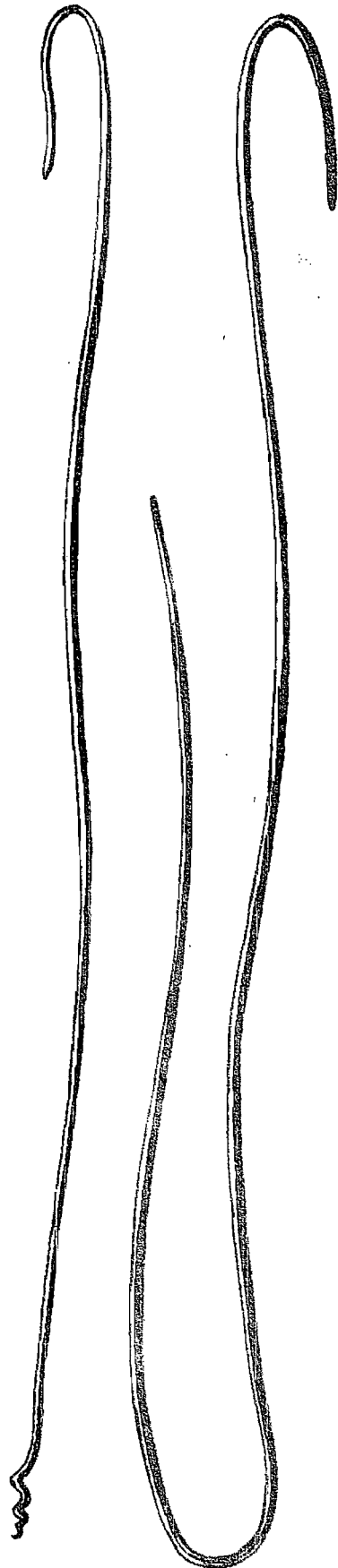


FIGURE N° 1 : DIROFILARIA IMMITIS (GRANDEUR
NATURELLE) A DROITE : FEMELLE ;
A GAUCHE : MALE (NOTER LA QUEUE
EN TIRE-BOUCHON) (D'APRES A.
RAILLIET)

L'extrémité postérieure du mâle présente l'aspect d'un tire-bouchon et porte 5 paires de fortes papilles ovoïdes dont 4 paires pré-cloacales et une paire post-cloacale, 2 paires de papilles digitiformes para et post cloacales et 3 à 4 paires de petites papilles coniques, en situation sub-terminale.

Nous notons également la présence de deux spicules dont l'un est grand, long et pointu ; l'autre petit avec une extrémité arrondie.

Chez la femelle, l'orifice vulvaire et les cordons génitaux s'ouvrent à 2,3 cm de la bouche EUZEBY (13).

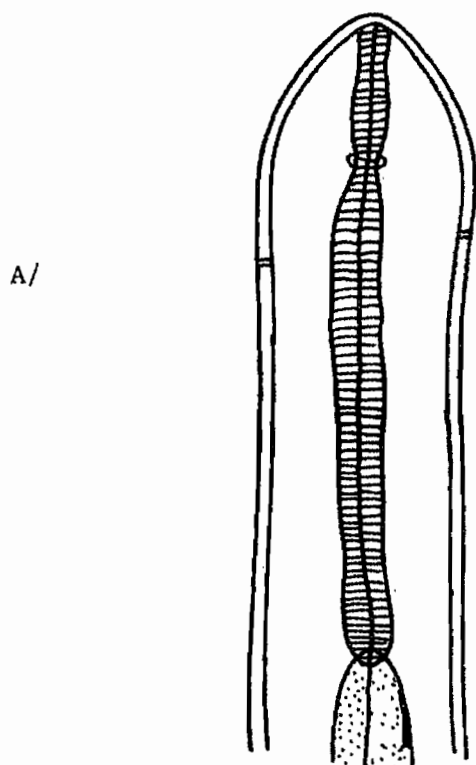
2.2 Description des formes larvaires (microfilaires)

Nous ne décrivons ici que les microfilaires rencontrées chez l'hôte définitif.

La microfilarie de *Dirofilaria immitis* est dépourvue de gaine (figure 3) et mesure 160 à 240 μ de longueur sur 6 μ de diamètre. Cet embryon possède une extrémité antérieure arrondie. Sa queue s'atténue progressivement jusqu'au dernier noyau somatique et se prolonge par une zone claire d'environ 20 μ .

Les noyaux somatiques longs de 2 - 3 μ , sont disposés dans la partie antérieure ; ils sont inégalement disposés et moins nombreux dans la partie postérieure. La disposition (schéma 1) de ces taches est la suivante :

- extrémité antérieure claire sur une longueur de 8 - 10 μ , avec en général un noyau isolé à l'extrémité postérieure mal définie ;
- bande claire correspondant à l'anneau nerveuse à 50 - 55 μ de l'apex ;
- à 20 μ plus en arrière, se trouve la tache excrétrice en forme de V ;



Dirofilaria immitis :
extrémité antérieure (x 39)
(d'après W. YORKE et MAPLESTONE).

Fig. 2/A

- le corps interne n'est pas visible ;
- la première cellule génitale, de teinte éosinophile à 150 μ de l'apex; elle est suivie d'une ou de deux cellules plus petites de 10 à 20 μ en arrière ;
- le pore anal qui se trouve à 180 μ environ de l'extrémité antérieure (35 microns en avant de la dernière cellule somatique) ;
- une zone claire à 15 μ en arrière du pore anal qui paraît constante ;
- l'espace caudal en toute dernière position.

3. BIOLOGIE

3.1 Habitat

Dirofilaria immitis vit à l'état adulte dans le ventricule droit avec quelquefois possibilités d'une embolisation en amont de l'artère pulmonaire ou en aval au niveau de la veine cave postérieure ; ce qui donne des localisations erratiques.

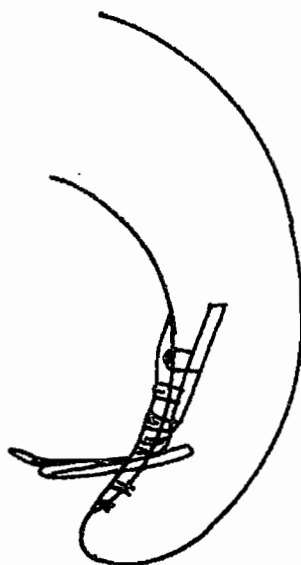
3.2 Nutrition

Les filaires et les microfilaires se nourrissent des substances plasmatiques.

3.3 Longévité

Bien que non précisée, la longévité des vers adultes est certainement de plusieurs années jusqu'à 3 ans selon WILCOX (60) ; celle des microfilaires n'est pas bien déterminée, 9 mois au moins d'après BAILEY en 1958 (4).

B/



Dirofilaria immitis

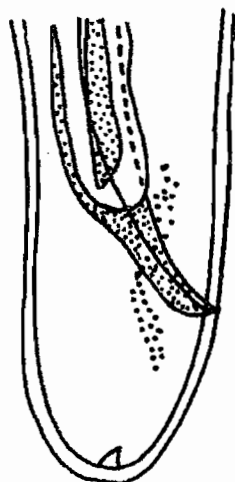
Extrêmité caudale du mâle (x 75)

(d'après W. YORKE et A. MAPLESTONE)

Fig.2/B

ECOLE INTER-ETATS
DES SCIENCES ET MÉDECINE
VÉTÉRINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

C/



Dirofilaria immitis

Extrêmité caudale de la femelle (x 39)

(d'après W. YORKE et A. MAPLESTONE)

Fig 2/C

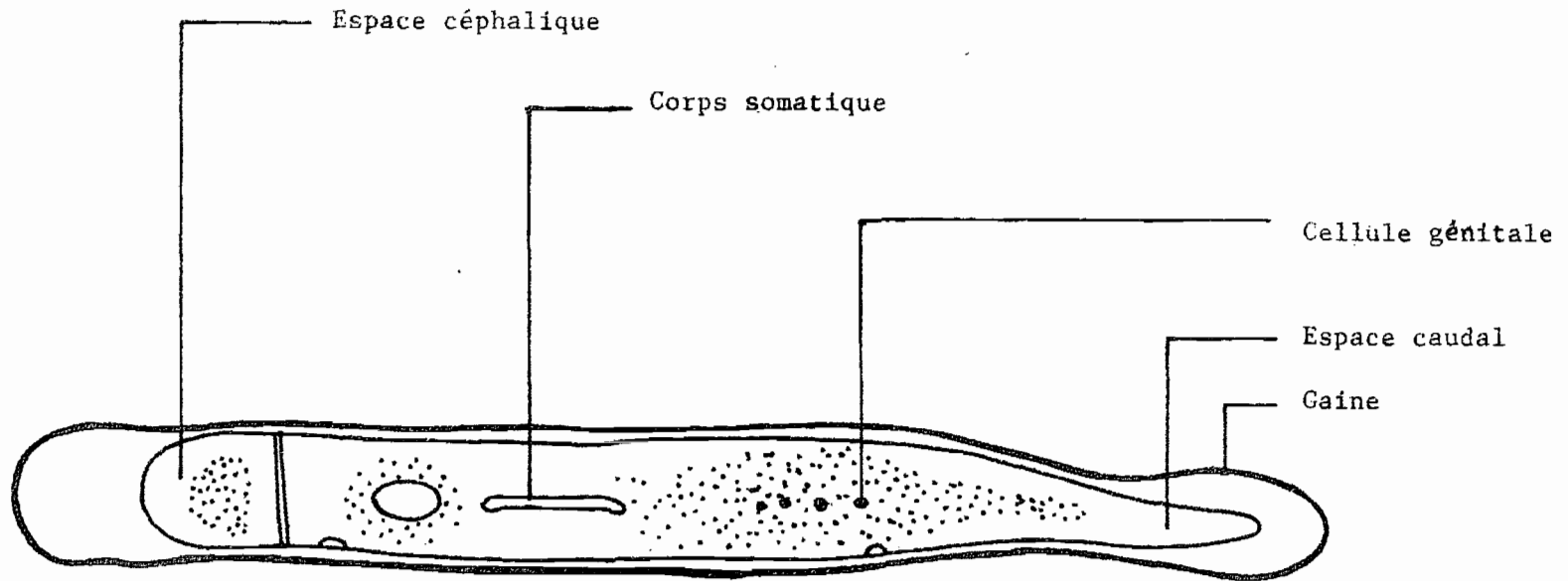
3.4 Cycle évolutif

Il s'agit en effet d'un cycle dihétero-xène dont l'évolution commence par la ponte chez la femelle, des microfilaires qui sont entraînées par la circulation sanguine jusqu'au niveau des capillaires de tous les organes (viscères profonds et peau). Ces embryons, de constitution uniquement cellulaire sont capables d'envahir alternativement les viscères profonds et les capillaires cutanés ; ainsi sans disparaître complètement de la peau, les microfilaires se concentrent dans la rate, les muscles, le foie généralement le matin, et le soir elles se concentrent dans les capillaires cutanés. Il y a variation nycthemérale de la microfilarémie.

Les microfilaires sont absorbées, lors d'un repas sanguin, par un arthropode vecteur appartenant à la famille des culicidés à savoir :

- Culex (culex pipens, fatigans)
 - Aedes (Aedes aegypti, gemiculatus, punctor)
 - Anophèles (Anopheles maculipennis) et selon le biotope de la région, il y aura dominance d'une espèce à l'autre.
- Chez l'hôte intermédiaire : culicidé, les microfilaires ne restent que très peu de temps dans l'estomac et après 24 à 36 heures, elles gagnent les tubes de malpighi où va s'accomplir le reste de l'évolution. Celle-ci passe par 3 stades larvaires qui vont de la larve de 1er âge à la larve de 3e âge dite larve infestante.

Le développement des 3 stades s'effectue dans les organes excréteurs de l'insecte puis la larve L₃ perce les parois du tube de malpighi, gagne le thorax puis la trompe où elle loge dans la cavité du labium.

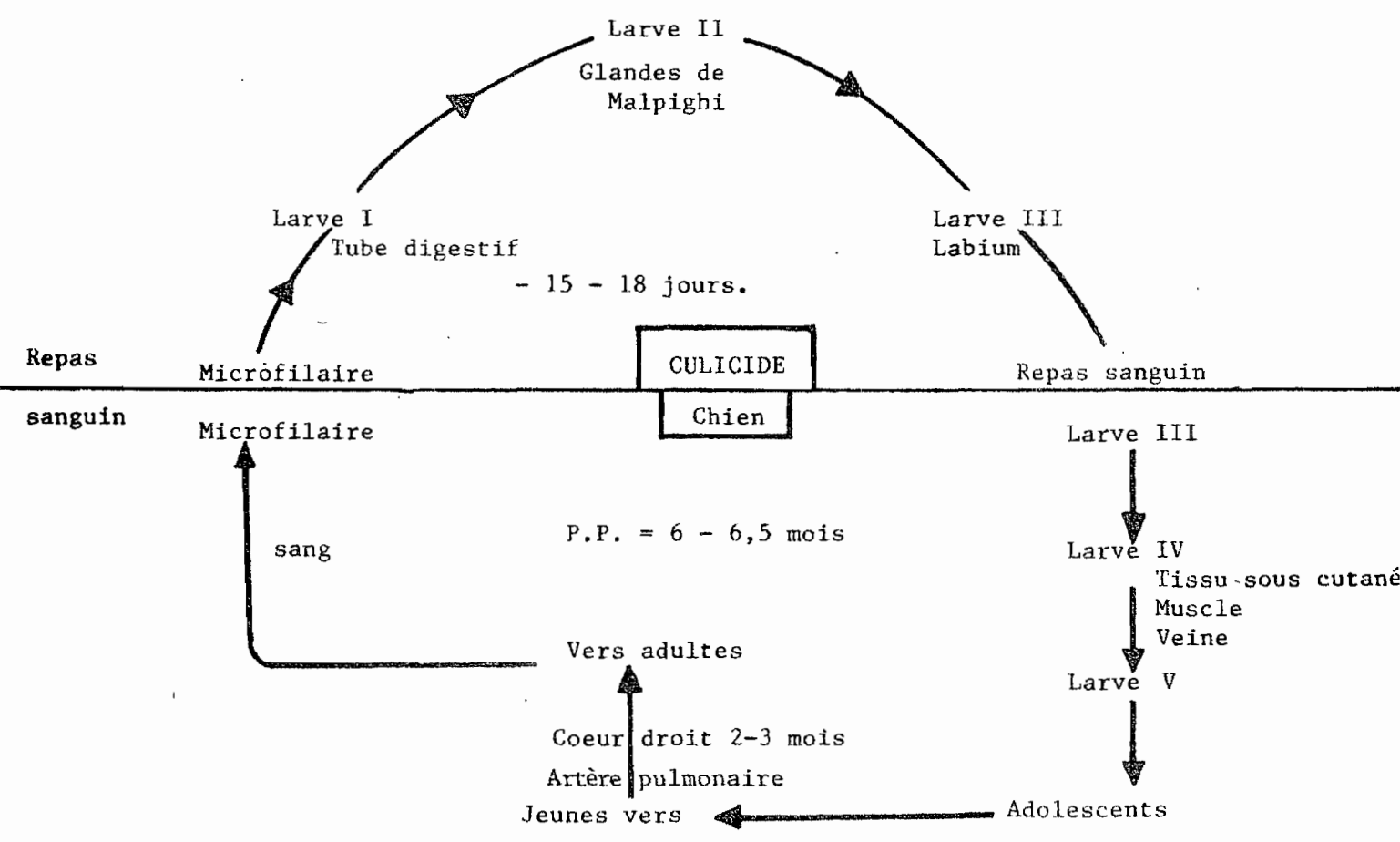


SCHEMA N° 1 : STRUCTURE SCHEMATIQUE D'UNE MICROFILAIRE (J. BUCKLEY)

Devant cette migration, la larve achève sa croissance, elle mesure 800 à 900 μ . La période prépatente est de 10 à 15 jours. En pays tropical, cette durée est plus courte 8 à 10 jours alors qu'en pays tempéré, le moustique devient infestant 15 à 18 jours après s'être lui-même infesté.

Cette évolution ne peut se poursuivre que si le moustique entre en contact avec un hôte définitif : chien au cours de son repas sanguin.

- Chez l'hôte définitif : le chien, la larve L_3 pénètre dans la peau, reste dans le conjonctif sous cutané et musculaire, se transforme en larve L_4 ; celle-ci passe à l'intérieur d'une veine et parvient jusqu'au coeur, ceci au bout de 85 à 120 jours. Deux mois plus tard, le ver atteint la maturation sexuelle, et le chien devient source naturelle de parasites (schéma 2).



SCHEMA N° 2 : CYCLE EVOLUTIF DE DIROFILARIA IMMITIS

CHAPITRE 2 : PATHOGENIE ET IMMUNOLOGIE

1. PATHOGENIE

1.1 Action pathogène

L'action pathogène est l'oeuvre des formes adultes comme des microfilaires, elle s'exerce selon diverses modalités :

1.1.1 Action mécanique

Elle résulte des phénomènes d'obstruction intéressant le coeur ou certains vaisseaux et réalisée par :

1.1.1.1 Les vers adultes

Les parasites provoquent un gêne mécanique au fonctionnement valvulaire. Les filaires s'enroulent autour des cordages du coeur ou s'amassent au voisinage des valvules, ce qui accroît la résistance à l'éjection systolique.

L'obstruction de l'artère pulmonaire apporte à l'hémostase des troubles sérieux et aggrave considérablement les perturbations circulatoires. Après la mort des vers adultes, il y a :

- possibilité de passage de ceux-ci dans les artères pulmonaires avec embolisation (d'où ce syndrome aigu qui ne serait dû qu'à une action mécanique);
- possibilité de vers erratiques :
 - . dans l'encéphale (risque de quadriplégie),
 - . dans des kystes interdigités,
 - . dans les bronchioles.

./.

1.1.1.2 Les microfilaires

Elles peuvent provoquer l'embolisation des capillaires pulmonaires, cutanés, encéphaliques, médullaires et parfois obstruent les artérioles coronaires.

Possibilité de passage dans les vaisseaux oculaires, et même dans la chambre antérieure ou postérieure de l'oeil.

1.1.2 Action irritative

1.1.2.1 Les vers adultes.

Les vers adultes provoquent des réactions inflammatoires du tissu artériel, il s'en suit des lésions d'indocardite et d'endartérite pulmonaires. Ces lésions pulmonaires sont à l'origine des thrombi qui peuvent s'emboliser et aggraver l'action propre des parasites. La formation des caillots mêlés aux parasites conduit à des troubles de l'hydraulique cardio-pulmonaire.

L'irritation permanente du revêtement vasculaire entraîne une hypertrophie de l'intima et de la média des artères puis une sclérose de celle-ci.

1.1.2.2 Les microfilaires

Elles provoquent des graves troubles circulatoires, irréversibles du fait de la fibrose pulmonaire.

De plus, ces embryons engendrent les mêmes lésions au niveau des capillaires pulmonaires, cutanés mais aussi céphaliques et rénaux.

1.1.3 Action toxique

Elle est due par l'effet des produits du métabolisme des vers. Cette imprégnation toxique explique en partie, la cachexie observée aux périodes terminales de la maladie.

1.2 Conséquences (cf schéma N° 3)

1.2.1 Conséquence cardio-pulmonaire

Le syndrome cardio-pulmonaire apparaît comme un syndrome d'insuffisance cardiaque, avec ses deux périodes classiques :

- période d'hypertrophie ventriculaire (phase d'insuffisance compensée) : dyspnée d'effort, tachycardie et la période de dilatation cardiaque (phase d'insuffisance décompensée) d'ou stase sanguine avec:
- congestion pulmonaire : dyspnée, toux rauque, sèche, quinteuse, respiration haletante, rales fins et crépitants.
- congestion rénale : oligurie parfois albuminurie
- congestion hépatique caractérisée par une hypertension portale. Aux stades très avancés, possibilité d'ascite, d'hydro thorax, oedème
- congestion intestinale : diarrhée parfois hémorragique.

Toutefois selon KUME (32) sur le poumon, l'embolisation des parasites adultes ou des microfilaires, l'endarthérite et les thromboses vasculaires entraînent l'apparition d'une pneumonie éosinophile.

L'action térébrante des parasites qui peuvent provoquer de véritables abcès filariens, vient aggraver la pneumonie. JACSON (25) parle de "Pneumonie filarienne".

Sur le coeur droit, l'endocardite valvulaire et surtout l'obstruction du ventricule et de l'artère pulmonaire, provoquent des troubles de la réplétion et de la vidange du coeur ; il en résulte, des phénomènes de stases dans les viscères situés en amont et dans l'encephale, ainsi que la congestion passive des poumons. La difficulté circulatoire dans le coeur droit ne tarde pas

à provoquer des troubles au niveau du ventricule gauche et l'insuffisance cardiaque devient totale, d'abord compensée par l'hypertrophie ventriculaire, puis décompensée, lorsque le coeur, défaillant, se dilate.

Enfin l'embolisation des ramifications coronariennes explique les lésions nécrotiques de certaines aires myocardiques, et les modifications de l'électrocardiogramme.

1.2.2 Conséquence nerveuse

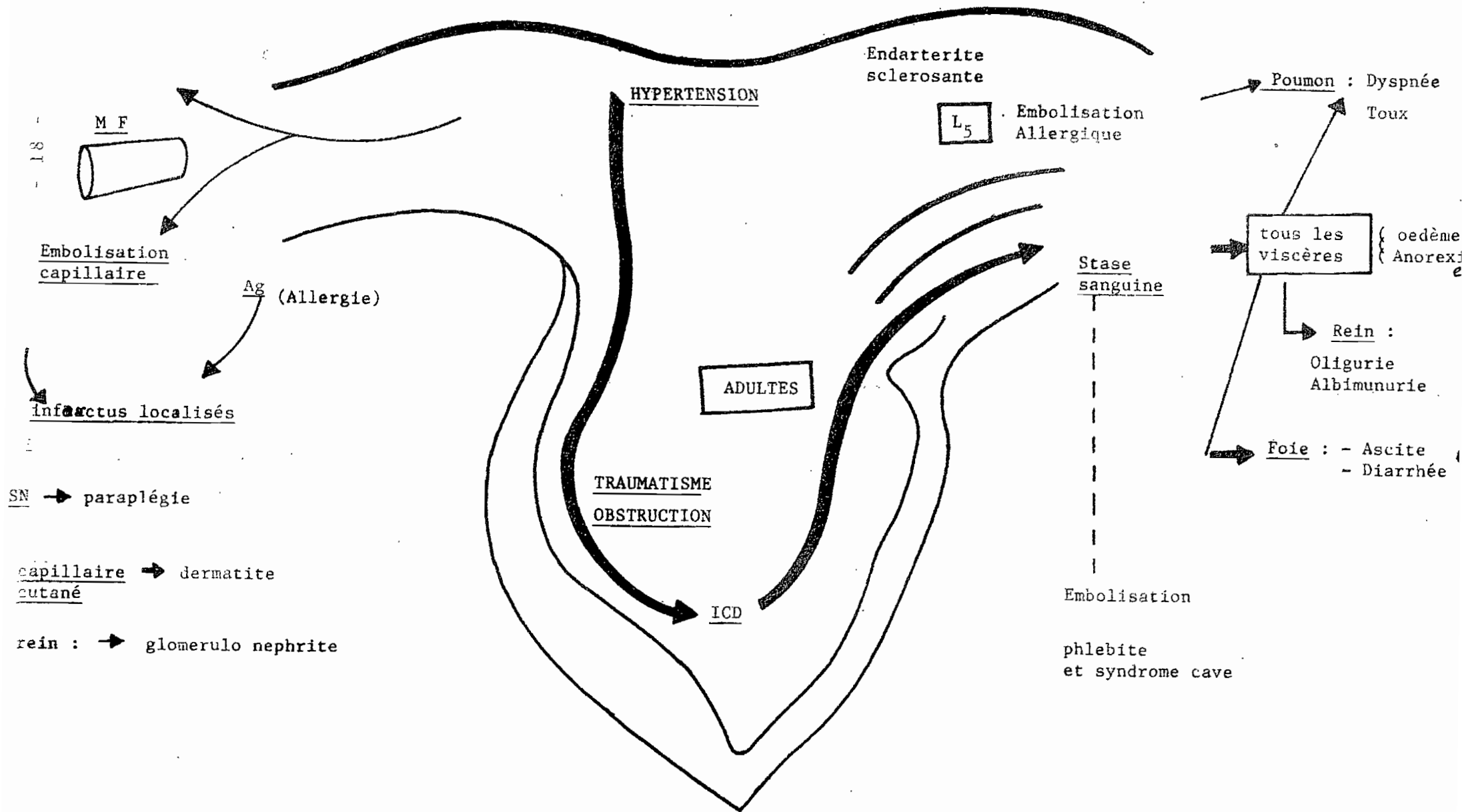
Les troubles circulatoires se font également ressentir à ce niveau : ils entraînent des crises d'anémie cérébrale par défaut d'irrigation. Les embolies des microfilaires dans les capillaires encéphaliques et médullaires entraînent des symptômes paralytiques ou paraplégiques. Les phénomènes de congestion passive et les oedèmes fugaces qui leur succèdent, provoquent l'apparition de torpeur, de crises convulsives et d'excitation : il y a alors modification du comportement.

1.2.3 Conséquence hépatique et rénale

Le ralentissement du flux sanguin et l'hypertension portale retentissent sur l'intestin et peuvent provoquer une diarrhée. La congestion passive du rein explique l'oligurie et l'albuminurie souvent observées. L'embolisation des microfilaires peut être à l'origine d'une glomérulonéphrite.

1.2.4 Conséquence cutanée

Les lésions cutanées sont l'oeuvre directe des microfilaires qui se trouvent dans les capillaires : dépilations, plaques ulcéropustuleuses surtout situées à la pointe et base des oreilles scintement et mauvaise nutrition dermo-épidermique sont dûs à des



SCHEMA N° 3 : PATHOGENIE DE LA DIROFILARIOSE CANINE

phénomènes de congestion passive. De plus, les phénomènes allergiques locaux provoquent des lésions pseudo-eczémateuses.

1.2.5 Syndrome de la veine cave (syndrome hémolytique aigu).

Encore appelé "Hémoglobinurie dirofilarienne" correspond au passage de nombreux vers adultes dans la veine cave postérieure et dans l'atrium. Il est fréquemment rencontré en zone endémique. Le syndrome de la veine cave se manifeste de manière brutale sur des chiens et la mort peut survenir 12 à 72 heures. Les chiens présentent de l'asthénie soudaine, avec anorexie, dépression, tachycardie, muqueuse décolorée, albuminurie hémoglobulinémie et hémoglobinurie. Ce signe d'hémoglobulinurie est considéré comme pathognomonique par R.F. JACKSON (23).

Selon cet auteur, on note un coeur "frappé" avec absence de souffle, de la polypnée et de la toux. Le taux d'urée sanguine est très élevée et les tests hépatiques notablement perturbés, ce qui dénote une grave atteinte des cellules hépatiques. L'ascite est souvent absente. L'examen nécropsique met en évidence dans le coeur droit une masse de vers qui envahit les veines caves antérieure et postérieure, quelquefois jusqu'à la jugulaire et à la veine iliaque commune.

2. IMMUNOLOGIE

2.1 Propriétés antigéniques des filaires

Les filaires possèdent un pouvoir antigénique. Ce caractère existe aussi bien chez les adultes que chez les microfilaires, et semble-t-il avec une intensité plus grande chez ces dernières.

2.1.1 Nature et qualité du matériel antigénique

Des nombreux extraits filariens ont été utilisés pour tester les réactions sérologiques des populations canines. Tous

ces extraits plus ou moins purifiés, représentant des fractions de filaires, réagissent avec les anticorps d'infestation ou anticorps témoins.

On met donc en évidence l'existence d'antigènes somatiques et exo-antigènes.

2.1.1.1 Antigènes somatiques

A l'origine d'une réponse sérologique qui n'est pas susceptible de conférer un état d'immunité à l'organisme parasité. Ce pouvoir antigénique des filaires est représenté en grande partie par la fraction protidique du parasite. Cela permet de comprendre que la purification des antigènes est un facteur de la qualité primordiale dans le diagnostic immunologique de la filariose.

En effet, il est bien établi que des tests immunologiques utilisant l'extrait aqueux ou extrait salin de parasite, montrent une haute fréquence de réactions non spécifiques. Dans certains cas l'élimination des composants indésirables est simple.

L'utilisation d'extraits salins délipidés dans les tests de fixation du complément s'avère positive. Mais d'une manière générale, la préparation d'antigènes satisfaisants nécessite un fractionnement supérieur.

On obtient des bons résultats en isolant les protéines actives du point de vue sérologique et les hydrates de carbone, des extraits aqueux ou salins.

Récemment MC. NEILSON (38) utilise la chromatographie séquentielle sur colonne séphadex suivie de l'électrophorèse sur gel polycridique pour scinder des extraits somatiques de filaires. Les différents fragments obtenus sont mis en contact avec des

ces extraits plus ou moins purifiés, représentant des fractions de filaires, réagissent avec les anticorps d'infestation ou anticorps témoins.

On met donc en évidence l'existence d'antigènes somatiques et exo-antigènes.

2.1.1.1 Antigènes somatiques

A l'origine d'une réponse sérologique qui n'est pas susceptible de conférer un état d'immunité à l'organisme parasité. Ce pouvoir antigénique des filaires est représenté en grande partie par la fraction protidique du parasite. Cela permet de comprendre que la purification des antigènes est un facteur de la qualité primordiale dans le diagnostic immunologique de la filariose.

En effet, il est bien établi que des tests immunologiques utilisant l'extrait aqueux ou extrait salin de parasite, montrent une haute fréquence de réactions non spécifiques. Dans certains cas l'élimination des composants indésirables est simple.

L'utilisation d'extraits salins délipidés dans les tests de fixation du complément s'avère positive. Mais d'une manière générale, la préparation d'antigènes satisfaisants nécessite un fractionnement supérieur.

On obtient des bons résultats en isolant les protéines actives du point de vue sérologique et les hydrates de carbone, des extraits aqueux ou salins.

Récemment MC. NEILSON (38) utilise la chromatographie séquentielle sur colonne séphadex suivie de l'électrophorèse sur gel polycridique pour scinder des extraits somatiques de filaires. Les différents fragments obtenus sont mis en contact avec des

sérums préparés sur lapin. Des études d'immuno diffusion permettent d'établir leur pouvoir antigénique spécifique.

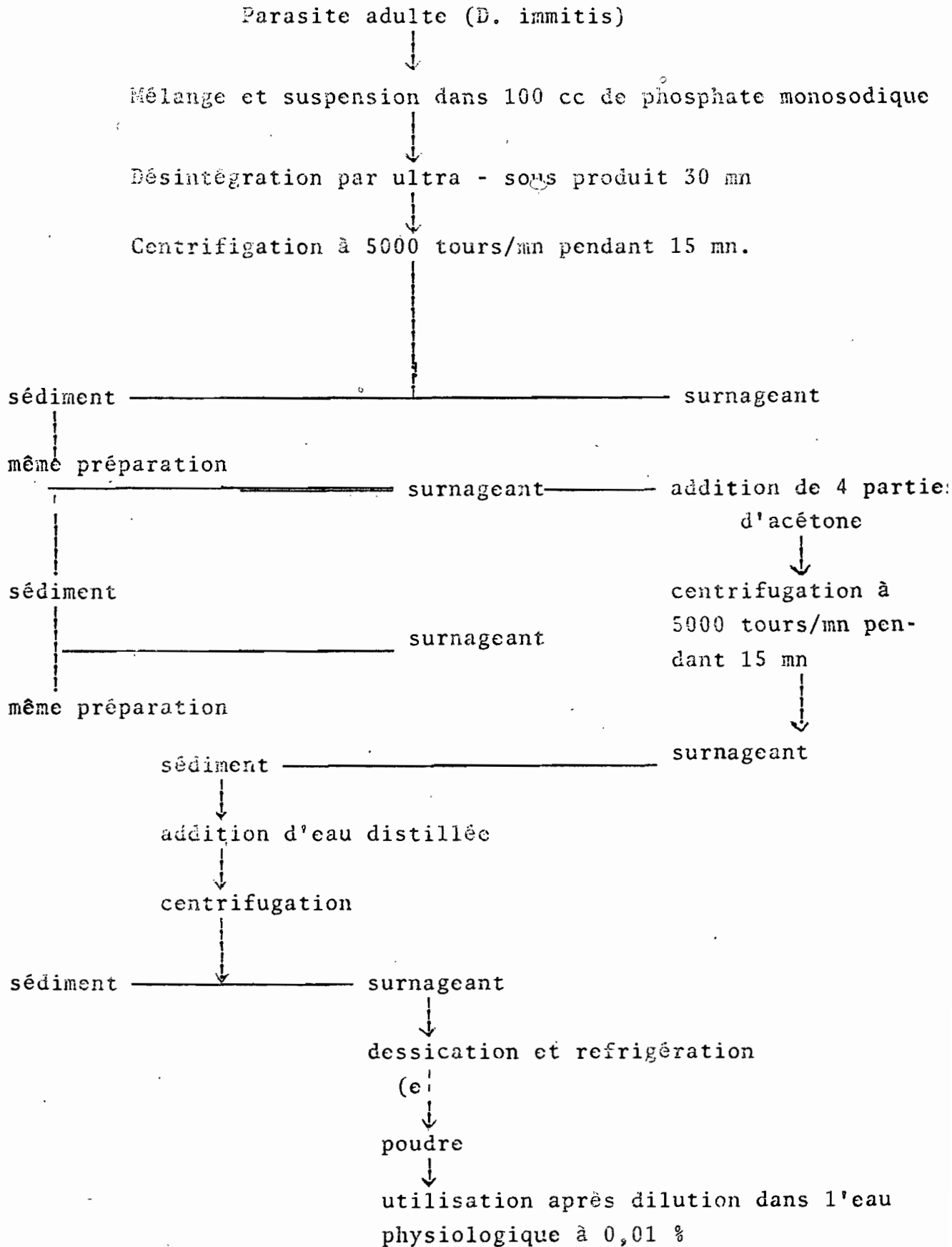
2.1.1.2 Les Exoantigènes

Il existe une excellente source antigénique fournie par les excréments et sécrétions des parasites : il s'agit des exoantigènes. Il est établi que la valeur est considérablement supérieure à celle des extraits somatiques (WEINSTEIN, 1959, 597).

FIFE (18) suggère d'ailleurs que les anticorps produits en réponse à ces excréments et sécrétions ont un pouvoir protecteur élevé. Des chercheurs ont réalisé des études sur l'utilisation des exoantigènes notamment dans la maladie de chagas avec *T. cruzi* et avec les cercaires. Le facteur limitant réside bien sûr dans les difficultés rencontrées pour maintenir à disposition les parasites vivants. Néanmoins, il faut préciser que c'est une approche d'avenir dans le diagnostic des maladies parasitaires et en particulier dans la filariose.

WONG (63) démontre in vivo et in vitro, que les microfilaraires ont, elles aussi, un pouvoir antigénique. Ce pouvoir n'est pas directement superposable à celui des filaires adultes. Certains anticorps apparaissent en plus grande quantité et plus longtemps lorsqu'on utilise les antigènes filariens, tandis que d'autres sont plus facilement isolés lorsqu'on fait appel aux antigènes microfilariens.

2.1.1.3 Exemple de préparation antigénique
par G. PACHECO (7)



2.2 Réaction immunologique de l'hôte définitif

2.2.1 Action immunologique défavorable

Il peut en résulter, dans l'organisation des individus infestés, des réactions allergiques, sur l'importance desquelles plusieurs chercheurs ont insisté. Ces réactions allergiques sont d'autant plus marquées que les quantités d'allergènes intervenant sont plus élevées : c'est ce qui explique les phénomènes réactionnels observés au cours du traitement des filarioses quand, du corps des parasites en voie de désintégration sont libérées les antigènes.

. Réactions anaphylactiques et hypersensibilité

Il existe dans la filariose des phénomènes d'hypersensibilité spécifique immédiate. Ces phénomènes sont encore mal compris. Il semble que l'hypersensibilité localisée consécutive à l'injection d'antigènes filariens, ne diffère du choc anaphylactique que par le degré de réaction de l'animal.

L'intradermo-réaction utilisée dans le diagnostic de la filariose, se caractérise par l'apparition d'une petite papule au lieu d'injection de l'antigène. Or si on utilise des fortes quantités de matériel antigénique, on assiste à l'apparition d'une forte réaction locale doublée d'un choc anaphylactique.

Ce choc anaphylactique est également observé à la suite d'un traitement lorsqu'il y a destruction massive et simultanée des parasites. L'étiologie de ce choc est mal connue, on sait seulement qu'il s'accompagne de la libération massive d'histamine et de perturbations neurovégétatives. Ce choc est prévenu par l'injection d'atropine et d'antihistaminiques.

./.

2.2.2 Action immunologique favorable

2.2.2.1 Immunité à médiation cellulaire

Comme dans toutes les maladies chroniques, il s'installe progressivement dans la filariose une immunité de prémunition ou d'infestation. Cette immunité repose sur le système réticulo-endothélial et en particulier les histiocytes transformés en macrophages. Elle se manifeste par une gêne apportée au développement des larves de surinfestation et par une destruction accrue de ces larves.

BASTON et BESON en 1970 (5) relie ce mécanisme à l'augmentation de l'éosinophilie sanguine observée dans la filariose. Ils démontrent que les lymphocytes sensibilisés produisent un facteur diffusible qui stimule la moelle osseuse.

2.2.2.2 Immunité à médiation humorale

Selon WONG (64) l'immunité antifilarienne repose en partie sur l'existence d'exoantigènes qui sont les produits d'excrétions et de sécrétion des parasites.

Ces exoantigènes, à l'origine d'anticorps protecteurs, sont de plusieurs types :

- métabolites des larves L₃ et (ou) L₄ : cela est suggéré par le fait que les vaccins faits à partir de larves mortes sont totalement inefficaces. Un certain degré d'immunité n'est atteint que lorsque les larves ont eu un contact suffisamment long avec l'hôte. Les larves irradiées à 25 Krad meurent trop vite pour être immunigènes.
- liquide de mue des larves L₃ et surtout L₄ : cela est suggéré par le fait que la meilleure immunité s'obtient 3 mois après l'infestation : période de mue des larves L₄.

- enzymes de migration : WONG, confronté par les études de LEE, LEWERT (36) attribue aux larves L₅ la faculté de produire des enzymes protéolytiques facilitant leur migration vers le coeur. L'auteur attribue un rôle antigénique majeur à ces enzymes.

FIFE en 1971 (18) confirme l'existence d'exoantigènes produits par les formes adultes. Il n'a pu démontrer leurs rôles dans l'immunité antifilarienne. Cependant leur haute spécificité trouve des applications dans le diagnostic immunologique.

2.2.2.3 Apparition des anticorps témoins : Etude cinétique

Le pouvoir antigénique des filaires est démontré par l'apparition d'anticorps dès le deuxième mois de l'infestation. On relève la présence dans le sérum des animaux infestés, de précipitines, agglutines et les anticorps fixant le complément. KUME (34) montre qu'il existe une corrélation entre la réponse sérologique de l'individu et "l'histoire" du parasite chez cet individu.

ORIHÉL et KUME (44 ; 34) établissent un rapport entre l'apparition des premiers anticorps et la 4^{ème} mue larvaire qui a lieu 8 à 10 semaines après l'infestation par les larves L₃.

ALLAIN, D.S. ; KAGAN, I.A et SCHLOTTHAUER (3) confirment ces observations à la faveur d'infestations expérimentales. Le titre d'anticorps s'élève dès la 8^e semaine, mais il décroît et s'annule lorsque les microfilaires apparaissent dans le sang périphérique.

On obtient ainsi une courbe d'anticorps assez typique de l'invasion filarienne. Cependant, l'aspect de cette courbe doit être modulé en fonction du degré de l'infestation et de la nature des anticorps recherchés. En effet, chez les chiens faiblement et fortement parasités, les titres obtenus grâce au test d'hémagglutination passive ont tendance à décroître un peu avant l'apparition des microfilaires.

Chez les chiens modérément atteints, cette décroissance est postérieure à l'apparition des microfilaires. Chez les chiens faiblement infestés, l'apparition des premiers anticorps est légèrement postérieure à la 4^{ème} mue larvaire (10 - 12^e semaine). On note enfin que chez les chiens très parasités, les taux d'anticorps sont toujours inférieurs à ceux que l'on observe chez les autres chiens.

Les résultats obtenus avec le test d'agglutination des particules de bentonite sont sensiblement différents. Ils révèlent de plus grandes fluctuations des taux d'anticorps.

En général, les réactions positives persistent un petit peu plus longtemps qu'avec le test d'hémagglutination passive et ne deviennent pas négatives avant l'apparition des microfilaires.

Toutes ces remarques sont résumées dans les courbes à la page suivante.

PACHECO, G. (46) en 1966 et TULLOCH (55) en 1970 observent un premier pic d'anticorps un mois après l'infestation expérimentale, suivi d'un second après 4 à 5 mois. Selon ces auteurs, le premier pic correspondrait à la migration tissulaire des larves du 3^{ème} âge. Le fait qu'il n'y ait pas de concordance rigoureuse entre les résultats obtenus par les différents chercheurs est imputable à l'absence de standardisation des moyens de recherche et du matériel antigénique.

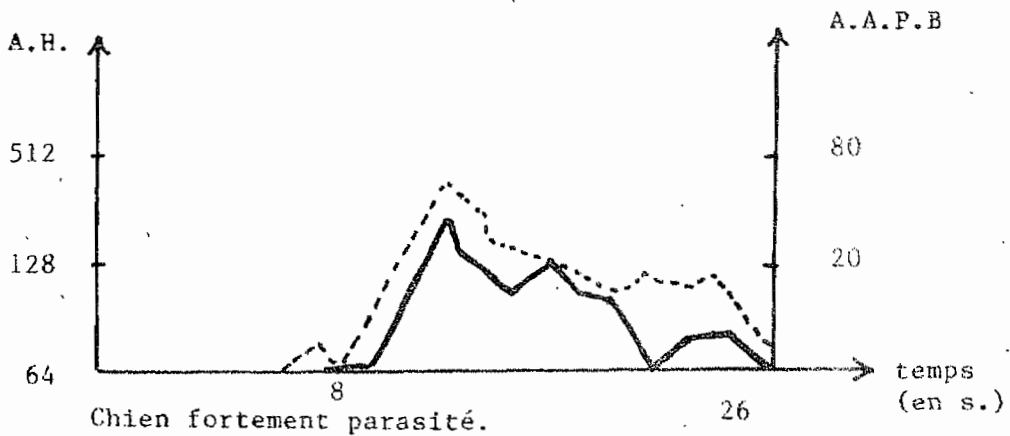
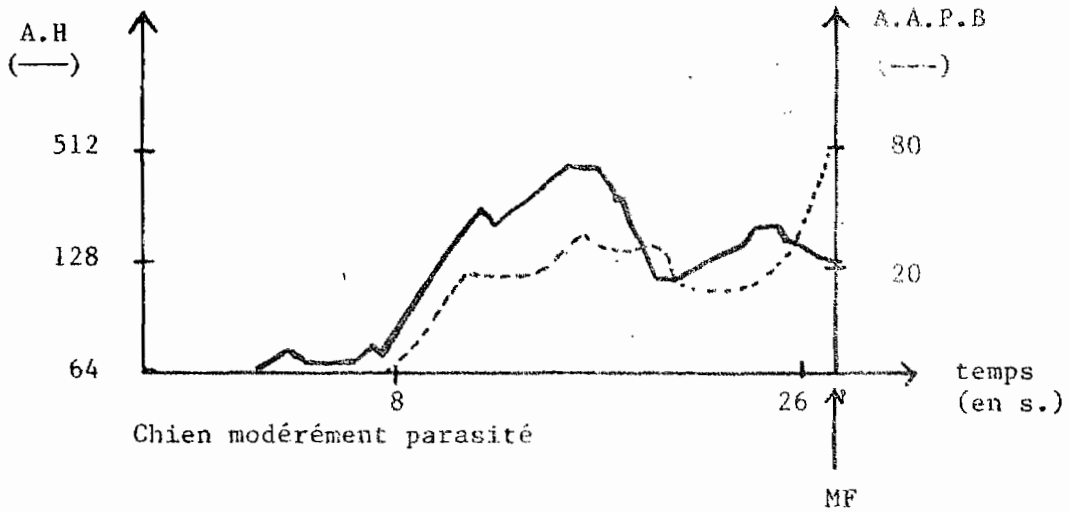
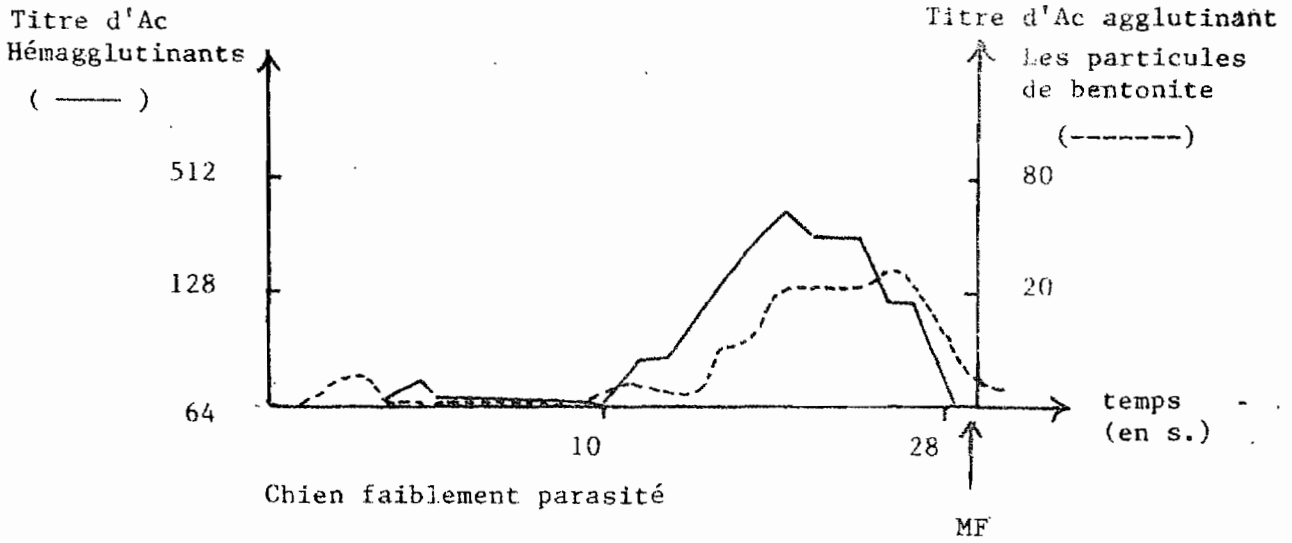
Par contre, la chute du taux d'anticorps concomitante avec l'apparition des microfilaires est rapportée par tous les auteurs.

MINNING et MAC RADZEAN (41) émettent plusieurs hypothèses explicatives :

- les microfilaires absorbent les anticorps ;

./.

ETUDE CINETIQUE DES Ac antifilariens



- les anticorps sont neutralisés par un fluide antigénique secrété par les adultes au moment de la parturition ;
- le système réticulo - endothelial est altéré par les produits du métabolisme des formes adultes.

2.2.2.4 Caractère de l'immunité

Il existe une immunité antifilarienne et les travaux de WONG, GALVIN, BELL et AH semblent ouvrir une perspective intéressante dans la prévention des filarioses. Il semble en effet qu'on puisse parler de vaccination contre la filariose, même si l'emploi des larves irradiées nécessite une plus ample expérimentation.

Outre la dualité du mécanisme immunitaire dans la filariose, il convient de noter le caractère sélectif de cette immunité.

En effet la plupart des auteurs qui ce sont intéressés au problème (WONG, PECKAM, MITCHELL, THOMPSON) ont remarqué que l'immunisation s'exerce stade par stade.

Cela signifie que les microfilaires "se protègent" des larves infestantes, et que les adultes "se protègent" des adultes ; confirmant ainsi l'hypothèse selon laquelle le pouvoir antigénique des adultes est différent de celui des microfilaires.

CHAPITRE 3 : LE DIAGNOSTIC

La confirmation de la Dirofilariose passe nécessairement par le diagnostic de laboratoire qui repose sur la mise en évidence soit des microfilaires de *D. immitis*, soit des témoins de l'infestation (Ac ou Ag) nonobstant les présomptions apportées par l'examen clinique ; cette épreuve est nécessaire pour affirmer l'existence de la filariose ; elle l'est, aussi pour déceler les porteurs des filaires dans une population d'animaux apparemment sains.

On utilisera soit le sang périphérique, soit le sang veineux selon la technique choisie.

Deux groupes de méthodes permettent de déceler l'existence des filaires ou de leurs témoins :

- les méthodes directes se basant sur la recherche des microfilaires dans la circulation sanguine (périphérique ou générale) ;
- les méthodes indirectes dites immunologiques.

1. LES TECHNIQUES DE RECHERCHE

1.1 Les prélèvements sanguins

1.1.1 Moment du prélèvement

Le moment du prélèvement ne semble pas être fondamental. Si l'on s'en refait aux observations d'EUZIBY (13), la simple opération qui consiste à ponctionner une goutte de sang suffit à provoquer un stress et par là, la libération des microfilaires dans le réseau sanguin périphérique.

./.

1.1.2 Lieu du prélèvement

Le sang destiné à la recherche des microfilaries peut être prélevé soit dans les capillaires cutanés ou muqueux, soit dans une veine périphérique.

Pour la ponction veineuse, on utilisera chez le chien la saphène externe, la radiale ou la jugulaire ; on recueillera 1 à 10 cc de sang. En ce qui concerne la ponction des capillaires cutanés, on opérera à la face interne de l'oreille après avoir effectué une friction locale pour provoquer une vasodilatation "in situ".

Il faut prélever la première goutte perlante au point de ponction car elle est la plus riche en parasites.

2. EXAMEN DIRECT : PROCÉDES D'ISOLEMENT DES MICRO-FILAIRES DANS LA CIRCULATION SANGUINE

2.1 Examen du sang capillaire

Cet examen ne comporte que des méthodes simples, rapides sans enrichissement. Il peut être immédiat ou différé.

2.1.1 Examen extemporané à l'état frais

Une goutte de sang est examinée entre lame et lamelle immédiatement après son prélèvement. On peut y ajouter un anticoagulant (le complexon ou le citrate de soude) qui évite la gêne constituée par l'agglutination des globules rouges.

L'examen microscopique est pratiqué immédiatement et à faible grossissement (23 x). La recherche des microfilaries est facilitée par l'emploi de colorants vitaux : bleu de méthylène à 1 p 5000. Azur II à 1 p 3000... A une goutte de sang, on

./.

ajoute une goutte de colorant. Les microfilaires apparaissent alors mobiles bien que la coloration vitale soit une qualité inconstante.

Cet examen ne permet pas cependant l'identification de l'espèce parasite.

2.1.2 Examen différé

Il se déroule sur plusieurs étapes : l'étalement, la dessiccation, la fixation et la coloration du sang.

Nous disposons de deux techniques qui sont généralement utilisées : la goutte épaisse et le frottis mince.

2.1.2.1 La goutte épaisse

Le principe consiste à étaler sur une petite surface 2 à 3 gouttes de sang. Les parasites éventuellement présents seront rassemblés et plus facilement décelables. Ce procédé exige une hémolyse préalable sans laquelle l'observation microscopique serait impossible.

La goutte épaisse est laissée à l'air libre pendant 24 heures ou séchée à l'étuve à 37°C pendant une heure. Elle est ensuite déhémoglobinisée à l'eau distillée en mettant la lame verticale dans un cristalliseur puis séchée à la température ambiante.

La préparation est fixée grâce à l'alcool méthylique pendant 5 minutes, on rince légèrement à l'eau distillée puis on sèche à nouveau.

A défaut de l'alcool méthylique, on peut utiliser le May - Grunwald - Giemsa sur goutte épaisse déhémolinisée

../..

et séchée ; l'hémalun éosine, l'hématoxyline ferrique, ou la pyronine vert de méthyle en suivant les mêmes étapes.

2.1.2.2 Le frottis mince

Cette technique consiste à l'étalement d'une goutte de sang, en couche mince sur une surface plus ou moins grande de la lame, suivi de la coloration au May - Grunwald - Giemsa. Les microfilaires s'accumulent sur les bords et la queue de l'étalement.

D'une manière générale, l'examen d'étalements séchés est une technique qualitative permettant d'apprécier uniquement la morphologie des microfilaires et donc l'identification des parasites.

2.2 Examen du sang veineux après concentration

Ces méthodes de concentration ont pour buts :

- de permettre de traiter une quantité appréciable de sang ;
- de concentrer dans le plus petit volume possible le plus grand nombre de microfilaires ;
- de ne pas altérer leur morphologie afin de permettre leur coloration et la détermination des espèces ;
- de faire appel qu'à des réactifs simples et être de réalisation facile.

L'avantage de ces procédés est de détecter des taux microfilarémiques bas, voire très bas.

2.2.1 Technique des tubes capillaires

Cette technique utilise des tubes capillaires ou tubes à hématoците de 2 à 5 ml de volume et mesurant 32 mm de long pour 0,8 mm de diamètre. Le sang est collecté dans des tubes avec EDTA. Les tubes sont remplis aux 2/3 et scellés à la chaleur. Ils sont centrifugés à 16 500 tour/mn pendant 2 minutes. Ces tubes sont maintenus verticalement pendant 2 heures et sont centrifugés à nouveau pour clarifier le plasma. La faible densité des microfilaries leur permet de rester dans le plasma tandis que les éléments figurés du sang se retrouvent dans le culot de centrifugation. On examine donc le plasma au microscope à grossissement 80 x. Les tubes sont fixés à un support du fait de leur petitesse.

L'examen de la colonne plasmatique permet d'apercevoir des microfilaries qui nagent au-dessus des sédiments. Puis ces embryons, après passage des tubes à la flamme, sont tués et restent droites. Ensuite, on emploie une méthode de numération particulière lorsqu'on découvre les microfilaries.

A un millilitre de sang, on ajoute 9 millilitres de solution formolée à 2p 100. Les globules rouges sont lysés par la solution et les microfilaries sont rassemblées par centrifugation à 2000 tours / mn pendant 10 minutes. On se débarrasse du surnageant et une portion mesurée du sédiment est placée entre lame et lamelle. Les microfilaries sont alors comptées.

Malheureusement, le rendement de la méthode est médiocre car l'examen microscopique est délicat : il faut analyser la colonne plasmatique plan sur plan.

2.2.2 Technique de KNOTT modifiée

On mélange un millilitre de sang frais à 10 millilitres de formol à 2p 100 dans un tube. Le tube est agité pendant quelques minutes pour lyser les globules rouges.

On les place ensuite dans une centrifugeuse pendant 5 minutes à 1000 tours / mn. Le tube est laissé en place pendant une heure afin qu'une bonne décantation s'opère puis on fait passer un agitateur en bois sur les parois du tube pour décoller les microfilaires adhérentes. En outre, soit on recueille quelques gouttes du sédiment sur une lame auxquelles on ajoute une goutte de bleu de méthylène à 1p 1000 pour la coloration des microfilaires, soit on ajoute le colorant directement sur le sédiment. On relève un échantillon du mélange qu'on analysera entre lame et lamelle.

2.2.3 Technique de filtration

La filtration se fait avec des tamis métalliques à maille de 23 μ , sur lesquels on fait couler du sang hépariné puis hémolysé à l'eau distillée. Les microfilaires arrêtées par les mailles sont concentrées par centrifugation puis colorées au May - Grunwald - Giemsa ou à chaud à l'hématoxyline ferrique.

En 1974, l'"EVESCO pharmaceutical Corporation" a mis sur le marché un "nécessaire" permettant en moins de deux minutes, et sans centrifugation d'enrichir les prélèvements de sang en microfilaires, par simple filtration sur une membrane. Le "Difil test Kit" comporte un flacon de produit hémolysant, des membranes filtres avec leur support, et un flacon colorant fixateur. Ce matériel à la portée de tout praticien simplifie considérablement les dépistages de la Dirofilariose canine.

En résumé, il est conseillé pour la recherche des microfilaires de faire appel à l'examen direct qui est simple, rapide et peu coûteux. Il doit être utilisé de façon systématique même s'il faut le compléter par la suite. S'il s'avère positif en présence d'un tableau clinique évocateur, on se dispensera de tout autre examen. S'il est négatif ou si le diagnostic différentiel l'oblige, on aura recours aux techniques de filtration ou de Knott modifiée. Cependant ces deux dernières méthodes n'offrent pas pour autant une fiabilité totale en raison de l'existence des cas de filarioses amicrofilarémiques.

3. EXAMEN INDIRECT : METHODES IMMUNOLOGIQUES

1. Réaction de fixation du complément

1.1 Principe

Certains complexes antigène - anticorps, de même que le système hématies - hémolysines, peuvent fixer le complément mais ce phénomène se produit sans manifestation visible. On utilisera alors dans un deuxième temps, le système hématies - hémolysines, pour révéler la fixation ou non fixation du complément par le premier système antigène - anticorps.

La réaction s'effectue en deux temps :

- 1er temps : on met en présence le sérum suspect et l'antigène correspondant en présence de complément
- 2e temps : on ajoute le système hémolytique comme (hématies + sérum hémolytique correspondant).

Si le complément a été fixé dans le premier temps de la réaction, c'est à dire si le sérum suspect contenait des anticorps, il n'y aura plus de possibilités d'hémolyse dans le deuxième temps :

La Réaction est positive.

Si au contraire, le complément n'a pas été fixé dans le premier temps, il entrera en jeu dans le deuxième temps et permettra l'hémolyse des globules rouges :

La Réaction est négative.

La présence des anticorps dans le sérum à examiner est révélée par l'inhibition de l'hémolyse dans le système hémolytique mis en jeu dans le deuxième temps de la réaction.

Nous citerons ici une seule technique celle de KOLMER.

1.2 Technique de KOLMER à 4°c (30)

Elle est dite "d'hémolyse à 50 °c, fait appel à des quantités de complément constantes.

Les sérums à tester sont décomplémentés par la chaleur (30 mn à 56° c). Le sérum, l'antigène et le couple hémolytique sont introduits dans des tubes à la dose de 0,05 millilitre. Le diluant utilisé est le tampon véronal. On procède aussi au titrage des antigènes qui s'effectue en présence de deux pools de sérum humains (malades atteints de Loa-Loa). La dilution des pools de sérum va de 1/5 à 1/320e.

La fixation dure une nuit à 4°c en présence d'un témoin globule rouge, couple hémolytique et d'un témoin sérum et antigène pour s'assurer que sérum et antigène n'ont pas de propriétés anti-complémentaires.

La dilution des sérums correspondant à 50 % est considérée comme seuil de positivité.

La sensibilité du test est suffisante pour permettre un dosage quantitatif des anticorps. Le seuil de dilution positif est apprécié par le chercheur, il est fonction de la fréquence de l'infestation et des parasitoses annexes. En effet, la spécificité du test de fixation du complément n'est pas optimale. On note des réactions croisées avec certains parasites intestinaux (Ancylostomes et trichures). La valeur diagnostique du test n'est pas reconnue unanimement.

Des études récentes réalisées par WANG et LU (56) et FENG (17) rapportent que le test est efficace à 87 % dans le diagnostic des filarioses.

2. REACTION DE PRECIPITATION EN GELOSE

- Technique en boîte de pétri (OUCHTERLONY).

C'est la technique de double diffusion en gélose.

L'antigène et l'anticorps migrent à partir de deux alvéoles creusées dans un gel d'agarose. Les lignes de précipitation matérialisent l'apparition de complexe immuns et leur siège dépend de la vitesse de diffusion et de la concentration des deux réactifs.

Les résultats obtenus avec les antigènes microfilariens semblent être supérieurs à ceux que l'on obtient avec des antigènes filariens (MONTARON [427]).

La sensibilité de ce test est nettement inférieure à celles des autres tests sérologiques. Selon FIFE (18) vingt fois plus de complexes immuns sont nécessaires pour donner une ligne de précipitation, que pour donner une réaction dans le test de fixation.

Cette faible sensibilité rend le diagnostic précoce de filariose délicat. Cependant, le faible coût, la facilité d'exécution, rendent ce procédé utilisable dans n'importe quel laboratoire.

Il constitue le premier temps d'une analyse plus fine et beaucoup plus spécifique qui permet l'immunoélectrophorèse. Toutefois, on note des nombreuses réactions croisées entre *D. immitis*, *Toxocara canis* et *Toxascaris leonina*.

3. L'IMMUNOELECTROPHORESE (GIE)

Ce test combine l'immuno diffusion et l'électrophorèse pour une identification rapide (< 2h) d'antigène dans le sang. L'échantillon et un anticorps spécifique sont placés dans des cupules aux 2 côtes opposés d'une plaque et soumis à l'électrophorèse. L'antigène migrera vers l'anode et l'anticorps vers la cathode et une ligne de précipité se formera au lieu de rencontre.

./.

Cette méthode peut être utilisée pour tenter d'identifier soit les anticorps, soit les antigènes aussi bien des vers adultes que des microfilaires. L'immuno électrophorèse est considérée comme un test sensible et spécifique qui évite quelques unes des difficultés encourues à l'ELISA.

Dans des cas des chiens infestés expérimentalement, l'élévation et la baisse de tous les antigènes solubles circulants et anticorps ont été déterminées à intervalles réguliers. Les antigènes solubles sont d'abord détectés au premier mois, et les uns ou les autres anticorps sont détectés tout le long de l'infestation.

La présence d'anticorps n'était pas consistante, mais un niveau élevé de l'antigène circulant était présent en général.

L'immunoélectrophorèse a la potentialité d'un diagnostic sûr et utilisable, car elle peut détecter rapidement et simultanément tous les antigènes et anticorps.

4. REACTION D'AGGLUTINATION PASSIVE OU CONDITIONNEE

4.1 Principe

Ces réactions d'agglutination mettent en jeu un antigène constitué par une suspension d'éléments figurés. Elles sont plus sensibles que les réactions de précipitation.

De ce fait, certaines techniques sont basées sur la transformation d'une réaction de précipitation en réaction d'agglutination en fixant l'antigène soluble sur un support insoluble, en particulier des particules de latex (test d'agglutination au latex), de bentonite (test d'agglutination à la bentonite) ou des hématies (hémagglutination).

. L'avantage des réactions d'agglutination :

Elles sont peu sensibles au phénomène de zone, du fait de la structure particulière de l'antigène.

Elles demandent des quantités moins grandes d'antigène que des réactions de précipitation.

Elles permettent de déceler des quantités d'anticorps plus faibles.

En résumé, la technique est relativement simple et les méthodes sont plus sensibles.

. Difficultés :

Les principales difficultés de ces réactions sont le choix des particules absorbantes et la préparation de la suspension. Le choix de l'absorbant est fonction de la nature de l'antigène.

4.2 Réaction d'hémagglutination passive

Principe :

Il consiste à absorber sur des globules rouges des protéines antigéniques des globules rouges ainsi sensibilisés sont mis en contact avec différentes dilutions des sérums à tester.

Les anticorps réagissent avec les antigènes de surface et provoquent une hémagglutination.

Pour certains auteurs, le test d'hémagglutination est considéré comme plus sensible que le test de fixation du complément (KAGAN).

MANTOVANNI et KAGAN (39) étudient, grâce à ce test, les sérums de chiens infestés ou non par *D. immitis*. Les sérums sont testés avec 12 fractions antigéniques de *D. immitis* :

./.

- les sérums des animaux sains ne donnent aucune sécrétion,
- chez les animaux parasités, une seule des 12 fractions réagit avec les sérums, ce qui laisse à penser que la réaction est assez spécifique.

4.3 Test d'agglutination au latex

Principe :

L'antigène est fixé directement sur les particules de latex. Ces particules sensibilisées sont ensuite mises en contact avec le sérum contenant les anticorps.

La lecture des résultats peut se faire immédiatement ou, mieux, après 2 à 3 mn de repos. On compare les agglutinations obtenues à celles des sérums témoins positifs et négatifs. Les dilutions de sérums à examiner permettent un dosage quantitatif.

La lecture des résultats est exprimée en intensité de la réaction.:

- agglutination en brique pilée +++
- " en gros flacon ++
- petits agglutinats +
- quelques agglutinats dispersés +
- aucune agglutination (opalescence) 0.

Ce test ainsi pratiqué est spécifique et d'une sensibilité suffisante pour un diagnostic de dépistage. Toutefois, il est moins sensible surtout en dosage quantitatif, que la réaction de fixation du complément.

4.4 Test d'agglutination à la Bentonite

Ici, il s'agit des particules de bentonite qui sont sensibilisées avec du matériel filarien.

HEALY et KAGAN (21) travaillant sur des chiens, provenant des zones endémiques (*D. reconditum*), obtiennent 100 % de réactions positives. La méthode semble très sensible, mais manque peut être de spécificité.

En 1963, KAGAN, NORMAN et ALLAIN (28) font appel à 6 fractions antigéniques de *D. immitis*, testées sur des sérums de chiens infestés expérimentalement. La méthode apparaît, ici aussi, assez sensible puisque 65 % de réactions positives sont observées. On note cependant des réactions croisées (36 %) avec l'ascaridiose.

5. ANAPHYLAXIE CUTANEE PASSIVE (PCA)

Cette réaction est utilisée dans l'étude d'anticorps causant l'hypersensibilité immédiate.

Un anticorps ou anti sérum est injecté par la voie intradermique à un animal de laboratoire et contrôlé 24 heures après par injection intra veineuse de l'antigène spécifique et un colorant tel que le bleu Evans qui enveloppe de l'albumine. Le bleuissement de la peau au lieu d'injection indique que la perméabilité vasculaire a été altérée par la présence de l'albumine colorée.

Au moins deux chercheurs ont utilisé l'anaphylaxie cutanée passive avec comme antigène des fractions de *Dirofilaria* adultes et des produits de sécrétion - excrétion de cultures des femelles de *dirofilaria* gravides.

Il n'y avait aucune corrélation entre la taille de la tache et le nombre de *Dirofilaria*.

Ce système antigénique a eu des réactions croisées avec des parasites intestinaux. Un chercheur utilisant des produits de sécrétion - excrétion de *Dirofilaria* gravides a conclu que l'anaphylaxie cutanée passive était hautement sensible dans les infections occultes à médiation immunitaire mais que la sensibi-

té et la spécificité étaient limitées pour détecter d'autres infections.

6. L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (I F I)

L'immunofluorescence indirecte est un test sérologique qui permet la détection d'anticorps dans un sérum au moyen d'un frottis réalisé avec l'antigène correspondant. Elle fait intervenir un réactif supplémentaire : antiglobuline fluorescente qui sert d'indicateur "marqueur" de la réaction anticorps - antigène.

Pratiquement, la réaction se fait en 3 temps :

- 1er temps : mise en contact antigène - anticorps,
- 2e temps : adjonction antiglobuline spécifique, marquée par un fluorochrome,
- 3e temps : lecture de la fluorescence.

Si le résultat est positif, une réaction antigène - anticorps se fait, et l'anticorps fixé sera détecté par l'anticorps antiglobuline du chien marqué à la fluoresceine. Le test est hautement sensible.

Dans les infections expérimentales du chien, l'I.F.I est constamment négatif avant l'infection, durant la période prépatente et pendant la microfilarémie.

Lorsque la microfilarémie décroît, une réaction positive apparaît résultant de la production des anticorps (I g G) qui entraînent l'élimination des microfilaires.

Les résultats positifs sont détectés dans 85 à 95 % des cas cliniques amicrofilarémiques. Par conséquent un résultat positif est toujours approximativement juste mais il peut y avoir 10 à 15 % de résultats faussement négatifs chez un chien immunisé ayant des signes cliniques discrets.

Les résultats faussement positifs pourraient apparaître chez un chien débarrassé récemment de ces vers adultes après une maladie occulte et chez qui le niveau d'anticorps n'a pas baissé.

Contrairement à d'autres tests, l'I F I est à 100 % spécifique et sensible au cours de la Dirofilariose car elle détecte les anticorps ciblant les antigènes cutilaires des microfilaires.

La possibilité des réactions croisées avec *Dipetalonema reconditum* et les vers intestinaux a été étudiée mais non confirmée.

Les autres tests immunologiques détectent habituellement soit des antigènes, soit des anticorps ciblant les antigènes somatiques des microfilaires ou des filaires.

En dépit du haut degré de spécificité, le test I F I est limité dans son utilisation chez les chiens suspectés d'avoir la dirofilariose occulte.

7. REACTION D'IMMUNO OBSORPTION D'ENZYME (ELISA)

7.1 Définition

L'immuno absorption d'enzyme, en anglais "Enzyme linked immunosorbent Assay" ou test ELISA est une technique de dosage immunoenzymatique qui associe la sensibilité et la spécificité des réactions immunologique et enzymatique.

7.2 Principe

Il consiste dans la mise en évidence d'un complexe antigène - anticorps au moyen d'une antiglobuline spécifique "marquée" à l'aide d'une enzyme. Cette enzyme, en contact avec un substrat enzymatique approprié, provoque un changement de couleur qui peut être estimé visuellement, ou mieux, mesuré au spectrophotomètre.

Par le test ELISA, on recherche soit les anticorps, soit les antigènes circulants. Ainsi distingue-t-on deux types de test ELISA :

- Test anticorps - ELISA
- Test antigène - ELISA.

Le principe de ces deux tests est représenté sur les schémas (4).

7.3 Test de l'anticorps - ELISA (Acs - ELISA).

Ce test utilise soit des antigènes somatiques des adultes, soit des antigènes provenant des microfilaires et la spécificité du test est indiscutablement liée à la sélection d'antigène utilisé.

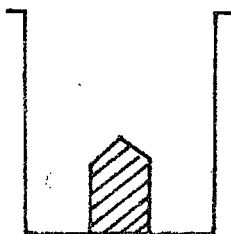
Le test anticorps - ELISA recherchant les anticorps est moins spécifique que l'I F I et est enclin à donner des résultats faussement positifs.

L'utilisation des antigènes de parasites adultes permet la détection d'anticorps dès la 10^e semaine après l'infection expérimentale, avec une différence significative dès la 16^e semaine. Les titres d'anticorps restent généralement élevés pendant toute la durée de l'infestation avec une diminution fréquente entre le 6^e et 7^e mois.

Il n'y a pas de corrélation avec le nombre de filaires adultes, ni le taux de microfilaires circulant.

Quand les titres d'Acs - ELISA sont mesurés avant et après le traitement adulticide, les titres devraient atteindre le pic à environ 4 semaines de traitement et décroître à des taux non décelables après environ 4 mois. La persistance des titres après le traitement indique la persistance des formes adultes.

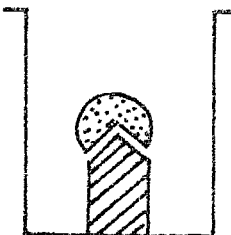
Fixation de l'antigène



1

LAVAGES

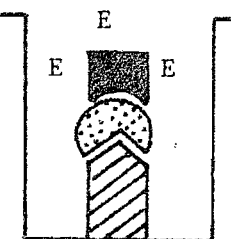
Fixation de l'anticorps (sérum)



2

LAVAGES

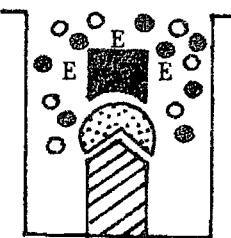
Fixation de l'antiglobuline marquée par l'enzyme.



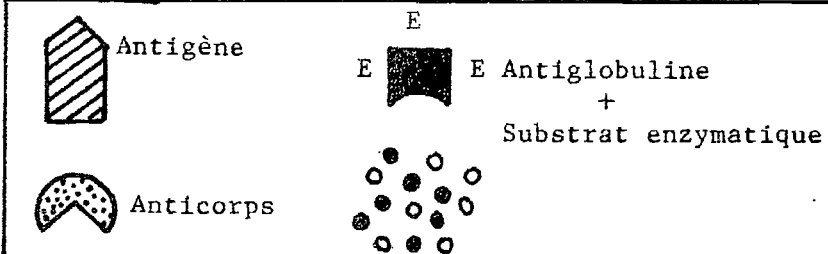
3

LAVAGES

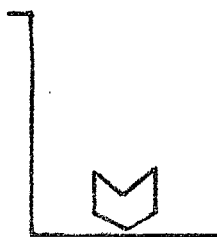
Réaction enzymatique colorée (substrat).



4



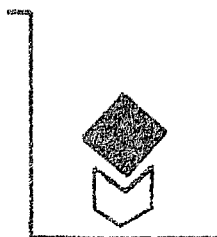
Fixation de l'anticorps



1

LAVAGES

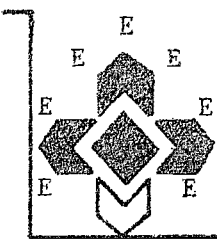
Ajouter le sérum à tester contenant l'antigène parasitaire



2

LAVAGES

Ajouter l'anticorps conjugué avec l'enzyme



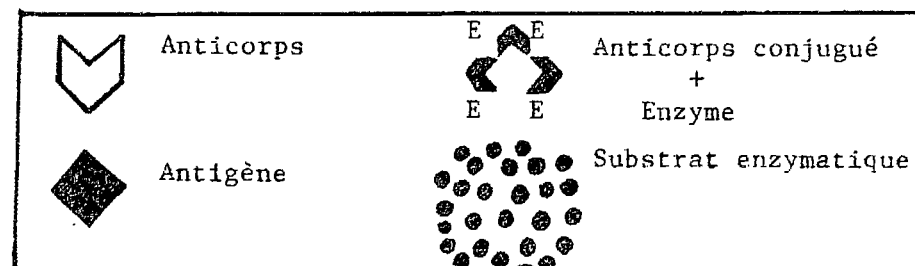
3

LAVAGES

Ajouter le substrat de l'enzyme, et incuber pour faire apparaître la coloration.



4



Avec l'utilisation des antigènes microfilariens, on observe que les titres d'anticorps augmentent et atteignent le pic 1 à 3 mois après les infestations expérimentales. Ces titres restent élevés pendant la durée de l'infestation. Par contre en I F I, les titres d'anticorps anti microfilariens ne sont pas décelables ni pendant la période pré-patente, ni durant la microfilarémie.

Le test Acs - ELISA est beaucoup moins spécifique que l'I F I probablement parce que le test utilise les antigènes somatiques. En outre, au cours des infestations tissulaires chroniques d'helminthe, il y a suppression de la réponse cellulaire aux antigènes parasitaires, alors que la réponse humorale à ces mêmes antigènes reste relativement élevée.

Les Docteurs John Mc CALL et DON GAWB, ont obtenu des résultats faussement positifs en pourcentage élevé avec des échantillons sanguins de chiens reconnus non infestés par les dirofilaria. Ces échantillons ont été prélevés sur des chiens de recherche, élevés dans un environnement infesté de moustiques. Certains n'ont connu aucune infestation, d'autres ont été infesté par Dipetalonema reconditum ou des vers intestinaux.

Plusieurs type d'infestations produisent une réponse humorale croisée avec les Kits d'Acs - ELISA habituellement commercialisés.

Des chiens sans dirofilaria adultes, traités à l'ivermectine et infesté par des larves infestantes donnent aussi des faux titres positifs. Ces titres sont probablement dûs aux stades larvaires avant l'arrêt de leur développement par l'agent préventif Ivermectine. Par conséquent le test Acs - ELISA ne devrait pas être utilisé sur des chiens sous traitement d'Ivermectine d'après Mc CALL.

En bref, plusieurs études ont montré que les tests Acs - ELISA ne sont pas spécifiques et que des réactions croisées peuvent apparaître avec d'autres réponses immunitaires.

7.4 Test de l'antigène - ELISA (Ag - ELISA)

Bien que similaire à l'anticorps - ELISA, l'antigène-ELISA utilise un anticorps pour détecter la présence d'antigène de surface circulant des *Dirofilaria* adultes.

L'anticorps utilisé est un Ac monoclonal.

C'est une technique d'introduction assez récente (1985). Des nombreux travaux réalisés ont montré que l'Ag - ELISA semble plus prometteur que l'Ac - ELISA.

Cependant d'après les travaux de MAC CALL et Collaborateurs cités par RAWLING, il existe encore de faibles réactions croisées avec *Dipetalonéma reconditum*, *Toxocara canis*, *Ankylostoma caninum* et *Uncinaria*.

DEUXIEME PARTIE

177 ETUDE EXPERIMENTALE DE LA DIROFILARIOSE
CANINE PAR LA TECHNIQUE ELISA

L ' O B J E C T I F

La localisation intra cardiaque des *Dirofilaria immitis* adultes pose d'énormes problèmes pour le diagnostic de la dirofilariose, surtout dans les cas de micro afilemémie.

La Radiographie et l'échographie sont les seuls moyens efficaces pour la détection de ces parasites adultes mais s'avèrent très coûteux et sont généralement limités aux pays du Nord. Les seules méthodes de diagnostic efficaces, sensibles et peu coûteuses demeurent celles qui recherchent les témoins de l'infestation (Ac - Ag). Parmi celles-ci nous citerons l'antigène - ELISA.

Utilisée depuis quelques années dans les pays européens, cette méthode est encore très peu connue, voire méconnue, dans les pays africains au sud du Sahara.

Notre objectif est donc d'étudier cette méthode afin d'évaluer l'efficacité de son application sur le terrain.

CHAPITRE 1 : MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL

1.1 Matériel animal

Notre travail a porté sur des chiens de la commune de PIKINE, chiens appartenant à des propriétaires mais vivant dans des mauvaises conditions. Il s'agit des chiens errants occasionnels pour la plupart pris au hasard, indifféremment de l'âge et du sexe (voir tableau n° 1).

1.1.1 Nombre de prélèvement

Nous avons effectué 186 prélèvements. Les chiens étant pris aléatoirement, nous nous sommes retrouvés avec une dominance des mâles sur des femelles.

1.2 Matériel de laboratoire

1.2.1 Matériel de laboratoire consommé

Le matériel utilisé lors de la phase pratique de notre travail se résume comme suit :

- un matériel de prélèvement représenté par des tubes à essai ; ce sont des tubes secs, sous vide sans anti-coagulant de 20 ml de volume. Ces tubes sont utilisés soit adaptés à des embouts sur lesquels sont montés les aiguilles, soit montés de façon manuelle à des aiguilles ordinaires quand nous réutilisons les tubes.

A chaque séance de prélèvement, ces tubes à essai sont stérilisés à l'autoclave et les aiguilles ordinaires sont stérilisées à froid dans le formol à 10p 100.

./.

Tableau I : Matériel Animal

N° d'ordre	Sexe	Age	N° d'ordre	Sexe	Age
1	mâle	3 mois	24	mâle	4 mois
2	mâle	2 ans	25	femelle	5 mois
3	mâle	3 ans	26	mâle	1 an
4	mâle	9 mois	27	mâle	2 ans
5	mâle	2 ans	28	mâle	1 an
6	femelle	4 mois	29	mâle	3 ans
7	femelle	2 ans	30	mâle	3 ans
8	mâle	2 ans	31	mâle	5 ans
9	mâle	4 mois	32	mâle	5 ans
10	mâle	6 mois	33	mâle	3 ans
11	mâle	8 mois	34	mâle	4 ans
12	mâle	5 mois	35	femelle	3 ans
13	femelle	3 ans	36	mâle	2 ans
14	femelle	4 ans	37	mâle	3 ans
15	mâle	2 ans	38	mâle	1 an
16	mâle	2 mois	39	mâle	6 ans
17	femelle	1 an	40	mâle	3 ans
18	mâle	1 an	41	mâle	3 ans
19	mâle	2 ans	42	femelle	5 ans
20	mâle	3 ans	43	mâle	3 ans
21	mâle	2 ans	44	mâle	5 ans
22	mâle	1 an	45	mâle	2 ans 1/2
23	mâle	1 an 1/2	46	mâle	2 an

Tableau N° 1 : Matériel Animal (suite)

N° d'ordre	Sexe	Age	N° d'ordre	Sexe	Age
47	femelle	5 mois	69	mâle	4 ans
48	mâle	9 mois	70	mâle	6 mois
49	femelle	7 mois	71	mâle	2 ans
50	mâle	2 ans	72	femelle	1 an 1/2
51	mâle	1 an	73	mâle	2 mois
52	mâle	1 an	74	mâle	2 ans
53	mâle	6 mois	75	mâle	4 ans
54	mâle	5 ans	76	mâle	3 ans
55	mâle	10 mois	77	mâle	1 an
56	mâle	2 ans	78	mâle	1 an
57	femelle	1 an	79	femelle	4 ans
58	mâle	4 ans	80	mâle	3 ans
59	mâle	10 mois	81	femelle	4 ans
60	femelle	2 ans	82	mâle	8 mois
61	mâle	2 ans	83	mâle	9 mois
62	mâle	6 mois	84	mâle	2 ans
63	mâle	4 mois	85	mâle	11 mois
64	mâle	6 mois	86	mâle	9 mois
65	femelle	1 an	87	mâle	3 ans
66	mâle	10 mois	88	femelle	3 ans
67	mâle	2 ans	89	mâle	1 an
68	femelle	6 ans	90	mâle	2 ans

Tableau n° 1 : Matériel Animal (suite)

N° d'ordre	Sexe	Age	N° d'ordre	Sexe	Age
91	mâle	6 mois	113	mâle	1 an
92	mâle	3 ans	114	mâle	7 mois
93	femelle	4 ans	115	mâle	1 an
94	mâle	9 mois	116	femelle	4 ans
95	femelle	9 mois	117	femelle	2 ans
96	mâle	1 an	118	femelle	8 ans
97	mâle	ans	119	femelle	2 ans
98	mâle	1 an	120	mâle	3 ans
99	mâle	1 an	121	femelle	2 ans
100	femelle	3 ans	122	femelle	4 ans
101	mâle	8 mois	123	femelle	2 ans
102	femelle	5 mois	124	femelle	3 ans
103	mâle	2 ans	125	mâle	2 ans
104	femelle	3 ans	126	femelle	2 ans
105	femelle	4 ans	127	femelle	1 an
106	mâle	9 mois	128	femelle	2 ans
107	mâle	6 mois	129	mâle	3 ans
108	femelle	3 ans	130	femelle	7 mois
109	mâle	2 mois	131	mâle	2 ans
110	femelle	2 ans	132	femelle	1 an
111	mâle	2 ans	133	mâle	12 ans
112	mâle	6 mois	134	mâle	2 ans

Tableau N° 1 : Matériel Animal (suite)

N° d'ordre	Sexe	Age	N° d'ordre	Sexe	Age
135	mâle	3 ans	159	femelle	6 ans
136	mâle	6 mois	160	mâle	3 ans
137	mâle	6 mois	161	mâle	5 ans
138	mâle	1 an	162	mâle	7 mois
139	femelle	3 ans	163	mâle	1 an
140	femelle	2 ans	164	femelle	2 ans
141	mâle	3 ans	165	femelle	1 an
142	mâle	3 ans	166	mâle	4 mois
143	femelle	2 ans	167	mâle	2 ans
144	mâle	7 ans	168	mâle	3 mois
145	mâle	5 mois	169	femelle	7 ans
146	mâle	7 mois	170	mâle	5 ans
147	femelle	6 mois	171	mâle	8 mois
148	mâle	2 ans	172	femelle	1 an 1/2
149	mâle	1 an	173	mâle	9 mois
150	mâle	7 ans	174	mâle	2 ans
151	femelle	7 ans	175	femelle	4 mois
152	mâle	2 ans	176	femelle	6 mois
153	femelle	8 ans	177	femelle	2 ans
154	femelle	3 ans	178	mâle	1 an
155	mâle	8 mois	179	mâle	1 an
156	mâle	4 ans	180	mâle	3 ans
157	mâle	4 ans	181	femelle	3 ans
158	femelle	6 ans	182	mâle	9 mois

- Des marqueurs pour numérotter les tubes ; des colliers et agrafes pour identifier les animaux.
- Les réactifs sont contenus dans un Kit Pet Chek* <<canine heartworm antigen test Kit >> fabriqué par le laboratoire IDEXX corp à PORTLAND aux USA.

Ce Kit comporte :

- . deux plaques ELISA pour la dilution préalable des sérums ;
- . deux plaques ELISA déjà tapissées avec l'anticorps *Dirofilaria immitis* ;
chacune de ces plaques renferme 96 cupules.
- . deux solutions tampons S_1 et S_2 pour le traitement des sérums ;
- . le conjugué anti *dirofilaria* : H R P O (Horseradish peroxidase ;
- . deux flacons, TMB (Tétraméthylbenzidine) diluant et TMB concentré dont le mélange constitue le substrat enzymatique qui permet la mise en évidence des antigènes capturés.
- . un flacon contenant la solution d'arrêt.

1.2.2 Equipement

Nous avons également à notre disposition :

- une picette contenant la solution de lavage et de l'eau distillée
- des micropipettes de précision dont une à 100 μ l avec 5 cônes et l'autre de 50 μ l ;
- un carton de cônes ;
- un agitateur magnétique pour favoriser les réactions.

2. METHODES

1. Obtention du sérum

Le sang est prélevé au niveau de la veine jugulaire des chiens dans des tubes à essai, sous vide ; ceux-ci sont

../..

ensuite placés dans une glacière contenant des blocs de glace enveloppés dans des sachets plastiques et sont transportés au laboratoire. Ils vont subir une centrifugation à 3 000 tours/mn pendant 5 minutes. Le sérum ainsi obtenu est conservé dans des tubes Eppendorf N.D. au congélateur dans l'attente d'être utilisé.

2.2 Application du test sérologique : ELISA

2.1 Principe

Il consiste en la détection d'antigènes circulants sécrétés par les *Dirofilaria immitis* adultes grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux.

L'antigène contenu dans le sérum à étudier va être mis en présence d'anticorps antidirofilarien tapissant les plaques de polystyrène. Il se forme un complexe antigène - anticorps.

Après lavage, un conjugué contenant un anticorps monoclonal est ajouté, et va se fixer sur l'antigène capturé dans les cupules des plaques de polystyrène.

A la fin du test, un substrat enzymatique et un chromogène sont ajoutés pour marquer la réaction (le complexe antigène - anticorps formé) (cf schéma N° 4).

2.2 Manipulation

- Préparation des réactifs

. Décongélation des sérums après les avoir sortis du congélateur

. Exposition des réactifs contenus dans le kit à la température ambiante avant l'emploi.

- Dilution de la solution de lavage ;

la solution de lavage concentrée est utilisée au 1/10e : une partie de cette solution de lavage à laquelle

on y ajoute 9 parties d'eau distillée ;
exemple pour 1000 ml (1 litre) de solution de lavage il faudra
100 ml de solution concentrée + 900 ml d'eau distillée.

- Dilution des sérums

Dans les plaques blanches (2) utilisées pour la dilution des
sérums :

nous avons déposé 50 μ l de sérum de contrôle positif dans un
cercle puis 50 μ l de sérum de contrôle négatif dans un autre
cercle et enfin 50 μ l de sérum à étudier successivement dans
chaque cupule (excepté les 3 premiers cercles) ;

Nous avons ajouté une goutte de 35 μ l de la solution tampon S_1
dans chaque cupule ; et après agitation et incubation à la tem-
pérature ambiante 15 μ l de la solution tampon S_2 ont été
réajoutées suivi ensuite d'une agitation afin de bien homo-
géneriser la dilution.

- Distribution des sérums dilués

A l'aide d'une pipette propre à chaque cupule, nous avons
transféré le contenu de la plaque blanche, dans la plaque tapis-
sée d'anticorps.

- Lavage des plaques

Après 30 minutes d'incubation à la température ambiante, le
contenu des plaques est rejeté puis chaque cupule est rincée
5 fois avec la solution de lavage. Ces plaques sont ensuite
retournées, secouées vigoureusement sur du papier absorbant
afin de sécher les cupules.

- Distribution du conjugué

3 gouttes de conjugué sont déposées dans chaque cupule puis les
plaques sont remises en incubation pendant 15 minutes à la tem-
pérature ambiante ; le conjugué est rejeté et le lavage des
plaques est fait comme précédemment.

./.

- Distribution du substrat

Une goutte de diluant TMB est déposée dans chaque cupule suivi d'une goutte de TMB concentré, le tout est mélangé grâce à une agitation des plaques puis après une incubation de 20 minutes à la température ambiante.

Une seconde agitation est réalisée pendant 5 minutes ; et pour terminer, nous avons ajouté une goutte de la solution d'arrêt dans chaque cupule.

- Lecture de la réaction.

Elle peut se faire soit au spectrophotomètre (1)
soit à l'oeil nu (2).

Le spectrophotomètre étant en panne, nous avons utilisé la méthode numéro 2 : c'est à dire la lecture à l'oeil nu.

Il s'agit d'une lecture directe ; en prenant comme référence le témoin positif qui se colore en bleu foncé et le témoin négatif qui est incolore ou clair. Nous avons obtenu les résultats suivants : (cf chapitre résultats).

CHAPITRE 2 : RESULTATS

1. RESULTATS

Sur 186 sérums prélevés, 7 se sont révélés positifs au test Ag - ELISA, soit un pourcentage de 3,76 %.

Ainsi à partir des résultats individuels détaillés dans le tableau n° II, nous avons analysé les résultats en fonction du sexe (tableau N° III) et de l'âge (Tableau n° IV).

Il ressort nettement qu'il n'y a aucune différence significative en fonction du sexe ; en revanche elle l'est en fonction de l'âge.

Tableau II : Résultats détaillés

N° d'ordre	ELISA	!!	N° d'ordre	ELISA
1	-	!!	24	-
2	-	!!	25	-
3	-	!!	26	-
4	-	!!	27	-
5	-	!!	28	-
6	-	!!	29	-
7	-	!!	30	-
8	-	!!	31	-
9	-	!!	32	-
10	-	!!	33	-
11	-	!!	34	-
12	-	!!	35	-
13	+	!!	36	-
14	-	!!	37	-
15	-	!!	38	-
16	-	!!	39	-
17	-	!!	40	-
18	-	!!	41	-
19	-	!!	42	-
20	-	!!	43	-
21	-	!!	44	-
22	-	!!	45	-
23	-	!!	46	-

./.

Tableau II : Résultats détaillés (suite)

N° d'ordre	ELISA		N° d'ordre	ELISA
47	-	!!	66	-
48	-	!!	67	-
49	-	!!	68	-
50	-	!!	69	-
51	+	!!	70	-
52	+	!!	71	-
53	-	!!	72	-
54	-	!!	73	-
55	-	!!	74	-
56	-	!!	75	-
57	-	!!	76	-
58	-	!!	77	-
59	-	!!	78	-
60	-	!!	79	-
61	-	!!	80	-
62	-	!!	81	-
63	-	!!	82	-
64	-	!!	83	-
65	-	!!	84	-

Tableau II : Résultats détaillés (suite)

N° d'ordre	ELISA	N° d'ordre	ELISA
85	-	102	-
86	-	103	-
87	-	104	-
88	-	105	-
89	-	106	-
90	-	107	-
91	-	108	-
92	-	109	-
93	-	110	+
94	-	111	-
95	-	112	-
96	-	113	-
97	-	114	-
98	-	115	-
99	-	116	-
100	-	117	-
101	-	118	+

Tableau II : Résultats détaillés (suite)

N° d'ordre	ELISA	!!	N° d'ordre	ELISA
119	-	!!	136	-
120	-	!!	137	-
121	-	!!	138	-
122	-	!!	139	-
123	-	!!	140	-
124	-	!!	141	-
125	-	!!	142	+
126	-	!!	143	-
127	-	!!	144	-
128	-	!!	145	-
129	-	!!	146	-
130	-	!!	147	-
131	-	!!	148	-
132	-	!!	149	-
133	-	!!	150	-
134	-	!!	151	-
135	-	!!	152	-

Tableau N° II : Résultats détaillés (fin)

N° d'ordre	ELISA	!!	N° d'ordre	ELISA
153	-	!!	173	-
154	-	!!	174	-
155	-	!!	175	-
156	-	!!	176	-
157	-	!!	177	-
158	-	!!	178	-
159	-	!!	179	-
160	-	!!	180	-
161	+	!!	181	-
162	-	!!	182	-
163	-	!!	183	-
164	-	!!	184	-
165	-	!!	185	-
166	-	!!	186	-
167	-	!!		
168	-	!!		
169	-	!!		
170	-	!!		
171	-	!!		

Tableau N° III : Répartition des résultats en fonction du sexe.

Sexe	Mâle	Femelles	Total	
Nombre	129	57	186	
Test Elisa	Positif	4	3	7
	Négatif	126	54	179
Pourcentage (P.100)	Pourcentage de positivité (P.100).	3,1	5,26	3,76

Tableau N° IV : Répartition des résultats en fonction de l'âge

Age	1 - 6 mois	6 - 1 an	1 - 12 ans	Total	
Nombre	31	46	109	186	
Test d'Elisa	Positif	0	0	7	7
	Négatif	31	46	102	179
Pourcentage (P.100)	Pourcentage de positivité	0	0	6,42	3,76

CHAPITRE 3 : DISCUSSION ET PROPOSITIONS DE LUTTE

I. DISCUSSION

Le matériel et les méthodes utilisés, ainsi que les résultats obtenus dans notre enquête sérologique nécessitent des commentaires et des critiques.

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel animal

Notre étude a porté sur 186 chiens choisis de façon aléatoire dans la commune de PIKINE.

Tenant compte de la taille de notre échantillon et le mode de prélèvement, on peut s'interroger sur :

- la représentativité de l'échantillonnage ;
- l'effectif total des chiens que regroupe la commune de PIKINE.

En effet, il n'existe aucune donnée statistique officielle sur le nombre de chiens dans la région de DAKAR en général et la commune de PIKINE en particulier. Les recensements n'ont jamais concerné les populations canines, ce qui limite l'estimation de l'effectif total des chiens dans cette région. D'où le choix au hasard du nombre d'animaux constituant notre échantillonnage.

Ainsi nous ne pouvons pas affirmer avec exactitude si l'échantillonnage est faible ou élevé. Toutefois ce nombre est relativement important et adapté au matériel de laboratoire dont nous disposons à savoir un Kit pet-chek* ne pouvant servir au maximum qu'à 186 chiens.

Comparativement aux travaux réalisés sur la Dirofilariose par plusieurs auteurs, notre échantillon paraît élevé.

Ronald JACKSON (24) en 1969 résume ces observations grâce à une étude portant sur 69 chiens suspects de filariose.

En 1974, HOUSE et CLOVER en comparant le test de filtration au test de KNOTT et l'examen direct, utilisent un total de 119 chiens filariens.

Aux USA, WYLLIE en 1970 (65) teste 25 chiens tandis que PALUMBO utilise 85 chiens en 1972.

1.1.2 Le sérum

Des précautions ont été prises au moment du prélèvement, du traitement et de la conservation des sérums afin d'éviter toute contamination. Parmi celles-ci :

- Traitement immédiat du sang au laboratoire après chaque séance de prélèvement ;
- Stérilisation du matériel.

1.2 Méthodes

1.2.1 Choix de la technique

Nous justifions le choix du test ELISA parce que c'est la technique la plus sensible de toutes les techniques sérologiques utilisées pour le dépistage de la Dirofilariose. Cela est d'ailleurs conforté par les travaux expérimentaux réalisés par Ray Dillon et Collaborateurs (50).

Ceux-ci, après infestation expérimentale des chats par *Dirofilaria immitis*, ont utilisé différents tests pour détecter les chats porteurs (IFI, ELISA Electrophorèse....). D'après leurs résultats (tableau N° 5), l'ELISA est bel et bien la technique la plus sensible de toutes les autres techniques.

Tableau N° 5 : Données collectées chez les chats après inoculation de L₃ *Dirofilaria immitis*.

! Jour ! (après in- festation!	! Comptage ! sanguin !	! Test de ! KNOTT !	! IFI !	! Elisa !	! TLB !	! Protéine ! electro- phèse. !	! Aspiration ! trachéale !	! ECG !	! Radiologie !	! Cathéri- ! sation !
0	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
16	x	x	x			x				
25				x						
39				x						
53				x						
67				x						
81				x						
88	x	x	x	x	x	x		x		
102				x						
116				x						
130				x						
144	x	x	x	x	x	x		x		
158				x						
172				x						
186				x			x		x	

Tableau N° 5 : Données collectées chez les chats après inoculation de L₃ *Dirofilaria immitis* (suite)

! Jour après !	! Compta- !	! Test de !	! IFI !	! Elisa !	! TLB !	! Protéi- !	! Aspira- !	! ECG !	! Radiolo- !	! Cathéri- !
! infesta- !	! ge san- !	! KNOTT !	! !	! !	! !	! ne élec- !	! tion !	! !	! gie !	! sation. !
! tion. !	! guin. !	! !	! !	! !	! !	! tropho- !	! trachéa- !	! !	! !	! !
! !	! !	! !	! !	! !	! !	! rèse. !	! le. !	! !	! !	! !
! 200 !	! x !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !
! 207 !	! ! !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !
! 221 !	! ! !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !
! 243 !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! x !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !
! 261 !	! ! !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! x !	! ! !
! 364 !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !
! 469 !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !
! 539 !	! ! !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! x !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !
! 660 !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! ! !	! x !	! ! !	! x !	! ! !
! 918 !	! x !	! x !	! x !	! x !	! ! !	! x !	! x !	! x !	! x !	! x !

SOURCE : RAY - DILLON

Ces mêmes chercheurs confirment aussi que le test Ag - ELISA est de loin plus sensible que le test Ac - ELISA. Ce qui conforte le rapprochement des résultats que nous avons obtenu tant en sérologie (3,76 %) qu'à l'autopsie au laboratoire de parasitologie (8,69 %), voir tableau N° 6 ci-dessous.

Tableau N° 6 : Prévalence des helminthes rencontrés chez les chiens autopsiés

Espèces.	Nombre d'animaux positifs	Prévalence	Localisation
<u>Cestodes</u>			
Dipylidium canium	60	86,95	Intestin grêle
Taenia hydatigena	31	44,92	Intestin grêle
<u>Nématodes</u>			
Spirocerca lupi	14	20,28	Oesophage + estomac
Ankylostoma brasiliense	55	79,71	Intestin grêle
Ankylostoma caninum	12	17,39	Intestin grêle
Toxocara canis	6	8,69	Intestin grêle
Dirofilaria immitis	6	8,69	Coeur droit.

ainsi, la technique sandwich - ELISA fondée uniquement sur la recherche des antigènes circulants comparativement à d'autres tests recherchant des anticorps circulants semble être beaucoup plus spécifique.

1.2.2 Application de la technique

Le test Ag - ELISA a été réalisé grâce au respect scrupuleux des indications contenues dans la notice. Nous avons confirmé la séropositivité de façon visuelle en prenant comme repère les sérums témoins positif et négatif.

Le spectrophotomètre ne possédant pas le filtre recommandé par le laboratoire, nous n'avons pas procédé au titrage des antigènes circulants.

Le test Ag - ELISA est une technique nouvelle qui jusqu'à présent n'est utilisée qu'à titre expérimentale en AFRIQUE au Sud du Sahara. En revanche les tests de dépistage actuels sont basés essentiellement sur la recherche des microfilaries ce qui amoindrit donc les chances de dépistage lors de la Dirofilariose amicrofilarémique.

Cette technique Ag - ELISA, en raison de l'utilisation des plaques, est orientée non pas vers un diagnostic clinique individuel mais plutôt vers un diagnostic de masse lors d'enquêtes épidémiologiques.

1.2.3 Interprétation des résultats

1.2.3.1 Résultats globaux

Les résultats obtenus par la méthode sérologique (3,76 %) se rapprochent de ceux obtenus à l'autopsie (8,69 %). Il en

../..

résulte que ces taux étant très faibles, l'incidence de la Dirofilariose est moins marquée dans la région de DAKAR, nonobstant l'intervention des facteurs extrinsèques :

- le mode de vie de la plupart des chiens que nous avons utilisés (chiens vivant à l'extérieur)
- la prolifération des vecteurs potentiels (Anophèles, culex) sévissant dans cette région ;
- l'âge assez avancé de la majorité des chiens (58 % de 1 à 12 ans).

Toutefois la maladie bien que d'incidence faible existe au SENEGAL et cela ne fait que confirmer ce que divers auteurs ont énoncé :

La filariose cardio-pulmonaire est une maladie transmise par les culicidés et frappant généralement des animaux qui vivent à l'extérieur et qui ont un âge supérieur ou égal à 1 an sauf exception.

Maladie signalée en Afrique équatoriale et occidentale, nous nous attendons à un pourcentage élevé en dépit de notre faible échantillonnage car le SENEGAL est un pays tropical, chaud et humide qui réuni toutes les conditions favorables au développement de la filariose canine avec des taux très élevés.

Or il ressort de nos résultats (3,76 %) que ce n'est pas le cas comparativement à certains pays tempérés qui offrent des pourcentages plus élevés malgré leur faible échantillonnage.

C'est ainsi qu'aux U S A, sur 119 chiens filariens, HOUSE et CLOVER obtiennent un pourcentage de 97,5 % par la technique de filtration. De même, en 1970 WYLLIE réalise une prévalence de 100 % sur 25 chiens soumis au test de filtration.

En Guyanne française, toute la région côtière est atteinte à 90 % et que dans l'île de Cayenne, où les prélèvements furent plus nombreux et la recherche menée de façon systématique, le pourcentage atteint 95 % HODEBAR en 1973 (22).

1.2.3.2 Résultats en fonction du sexe

D'après nos résultats, le sexe n'influence nullement la maladie. Nos observations sont d'ailleurs confirmés par les travaux de LECHAPT (35).

1.2.3.3 Résultats en fonction de l'âge

Nos résultats confirment que la Dirofilariose est incontestablement une maladie liée à l'âge. Ce sont des sujets âgés d'un an au moins qui payent le plus lourd tribut. Notre constat est corroboré par divers travaux réalisés de par le monde dont EUZEBY, LACHAPT, HODEBAR, JACTEL...

1.2.3.4 Incidence sur la santé publique

La Dirofilariose uniquement zoonotique chez l'homme est due à *D. immitis* parasite du chien et plus rarement du chat.

On connaît une centaine des cas d'infestation humaine qui se traduit, surtout par la formation de foyers d'infarcissement enveloppés d'une réaction pneumatique à éosinophile EUZEBY (13).

Mais en AFRIQUE en général et au SENEGAL en particulier aucune infestation humaine n'est signalée jusqu'à nos jours.

De tout ce qui précède, l'on peut conclure que la Dirofilariose est une maladie qui existe à PIKINE avec cependant une incidence faible. En raison de la gravité des symptômes qui peuvent en découler, il serait souhaitable de préconiser des mesures de lutte contre la filariose cardio-vasculaire. C'est ce que nous allons envisager dans ce dernier sous chapitre.

II. PROPOSITIONS DE LUTTE

Nous allons l'envisager sur deux plans :

- un plan sanitaire
- un plan médical.

2.1 Mesures sanitaires

2.1.1 Chez l'hôte définitif (chien)

- Il faudra limiter le temps d'exposition des animaux au contact des culicidés, particulièrement lors des périodes d'activité des moustiques.
- Utiliser des agents répulsifs, des colliers insecticides afin de protéger les chiens vivant à l'extérieur contre les piqûres d'insectes.

2.1.2 Chez l'hôte intermédiaire (culicidé)

La destruction massive des vecteurs s'avère difficile mais il faudra tout de même chercher à les atteindre directement en détruisant <<les gîtes à moustiques>> à la fin de la saison des pluies et pendant la saison chaude.

Les mares, les points d'eau stagnante devront être asséchés, ou supporter à intervalles réguliers l'expansion d'insecticide sur leur surface (3 à 6 fois durant la belle saison) afin de détruire les larves de moustique.

Atteindre les insectes par l'utilisation d'insecticides. La désinsectisation pourra se faire plusieurs fois par an, au moins deux fois par mois.

Toutefois, la meilleure protection des chiens sera apportée par la prophylaxie médicale.

2.2 Mesures médicales

Elles visent à détruire le parasite, sous sa forme larvaire ou adulte ou à l'état de microfilaries circulants, chez l'hôte définitif.

La destruction des larves, au fur et à mesure qu'elles sont transmises par les insectes vecteurs, est le moyen idéal.

Bloquer le cycle évolutif au stade larvaire, empêcher les chiens de s'infester par la mise en oeuvre d'une chimioprévention active contre les larves en migration et les larves infestantes en utilisant des anthelminthiques microfilaricides :

- Le diethyl carbamazine : NOTEZINE N.D.

C'est un dérivé de la pipérazine, se présente sous la forme de comprimés à 0,10 g et doit être administré par la voie buccale, de préférence dans une cuillerée à dessert d'eau ou de lait ou de sirop simple.

Il tue les larves L₃ et L₄ dans l'organisme à la dose de 2,5 mg/kg/J.

On l'utilisera de préférence sur des chiens non infestés venant vivre dans une zone d'enzootie durant tout leur séjour et on prolongera l'administration pendant 2 mois environ après le retour des chiens en zone indemne.

- L'antimonyl - pyrogallol - sulfonate de sodium à la dose de 5 mg/kg pendant 5 à 7 jours, tous les 45 jours, durant toute la période d'infestation (saison à moustique). Ce médicament détruit les larves infestantes de *D. immitis* avant leur transformation en ver adulte.

On pourra même pratiquer deux interventions chimiopréventives dans les régions où il existe une forte population culicidienne : Juin - Juillet et Septembre - Octobre.

- L'ivermectine

présente une très grande efficacité dans la lutte contre les filarioses humaines.

Utiliser à la dose de 0,1 mg/kg pendant 2 mois en sous cutané, détruit complètement les microfilaires avant leur transformation en adultes chez le chien.

C O N C L U S I O N G E N E R A L E

La Dirofilariose canine sévit dans de nombreux pays d'AMERIQUE du Nord et du Sud, d'ASIE, d'OCEANIE, d'EUROPE et d'AFRIQUE.

Le SENEGAL n'est pas épargné puisque nous venons de le prouver.

L'agent étiologique : *Dirofilaria immitis* est une filaire responsable d'une affection cardio-pulmonaire sévère. Il est très largement distribué dans le monde entier mais intéresse surtout les zones humides, chaudes et tempérées des deux hémisphères.

Dans toutes les régions où elle sévit, la maladie évolue dans des foyers bien localisés, en fonction des biotopes des culicidés vecteurs et qui coïncident souvent avec ceux du paludisme.

Les filaires adultes se localisent dans l'organisme au niveau du coeur et des vaisseaux sanguins adjacents. Elles se reproduisent en donnant naissance à des microfilaires qui se déplacent dans le courant sanguin et assurent la pérennité de l'infestation.

La mise en évidence de ces embryons pose problème et nécessite le diagnostic expérimental. Elle est rendue possible grâce à des méthodes simples ou plus élaborées.

La plus immédiate est l'examen au microscope d'une goutte de sang frais entre lame et lamelle. Les plus efficaces telles que la méthode de KNOTT ou de filtration, réalisent une véritable concentration du sang et augmentent les chances de succès.

Cependant dans un certain nombre de cas, la maladie ne s'accompagne pas d'excrétions microfilariennes. On aura donc recours à d'autres moyens d'investigations. Le dépistage sérologique en est un. Il consiste à isoler et à quantifier les témoins de l'infestation (Acs ou Ag).

La recherche de ces anticorps ou antigènes fait appel à plusieurs techniques réservées à des laboratoires bien équipés.

Il s'agit du test d'hypersensibilité, de précipitation en gélose, d'agglutination, de fixation du complément, d'immuno-electrophorèse, d'immunofluorescence indirecte et enfin de l'ELISA.

L'objectif de notre travail a été orienté vers l'adaptation de cette technique Ag - ELISA pour dépister la dirofilariose, technique qui jusqu'à présent est presque méconnue en AFRIQUE au Sud du Sahara.

Test très sensible et spécifique, l'Ag - ELISA sera réservé non pas pour un diagnostic clinique individuel mais plutôt pour un diagnostic de masse lors d'enquête épidémiologique.

La technique Ag - ELISA du fait de son efficacité, nous a permis d'obtenir sur 186 sérums testés, une prévalence de 3,76 % de séropositivité. Ce qui nous permet d'affirmer, malgré ce faible pourcentage obtenu, que la Dirofilariose existe au SENEGAL.

Fidèle compagnon de l'homme, le chien rend des multiples services à ce dernier (chasse, garde...). Cette complicité qui lie ces deux êtres vivants aboutit parfois à des conséquences néfastes. En effet, le chien peut transmettre à l'homme certaines maladies dont la Dirofilariose à *Dirofilaria immitis*.

Aux USA, en AUSTRALIE et au JAPON, des cas d'infestations humaines ont été observées. Ce qui n'est pas encore le cas en AFRIQUE. Toutefois cela ne nous permet ^{pas} de dire qu'il n'existe pas d'infestation humaine dans notre continent.

Enfin, une prophylaxie générale s'impose chez l'hôte définitif par l'utilisation de médicaments microfilaricides empêchant ainsi par la même occasion l'infestation des insectes hôtes intermédiaires et vecteurs du parasite. Le microfilaricide par excellence tant en filariose humaine qu'animale demeure de nos jours l'Ivermectine, lequel à la dose de 0,1 mg/kg élimine les microfilaires pendant 1 mois dans la circulation sanguine.

A cette mesure médicale, le port d'un collier répulsif serait suffisant pour protéger le chien contre d'éventuelles infestations.

B I B L I O G R A P H I E

1. - ADCOCK, J.L
Pulmonary arterial lesions in canine dirofilariasis
An. J. Vet. Res : 1961 ; 22 ; 655 - 662 P.
2. - A H, H S. et Coll
Studies on D. immitis infections in dogs relative to
immunization and antigene - antibody interactions.
In canine heartworm disease, the current knowledge.
University of Florida - Gainesville : 1972 ; 55 - 67 P.
3. - ALLAIN, D.S. ; KAGAN. IG. ; SCHLOTTHAUER, I.C.
Serologie sutides on dogs experimentally infected with
D. immitis of Florida - Gainesville : 1972 ; 69 - 76 P.
4. - BAILEY, R.W.
Dirofilariasis in sentry dogs of the pacific air force.
J. of. Am. Vet. Med. An : 1958 ; 133 (I) : 48 - 51 P.
5. - BASTEN, A. BEESON, R.B.
Mechanison of easinaphilia. II role of the lymphocyte
J. Exp. Med : 1970 ; 131 : 1288 - 1305 P.
6. - Bell, D.
Membranes filters and microfilariae : a new diagnostic
technique
Ann. Trop. med. parasitol : 1967, 61 : 220 - 223 P.
7. - BRADLEY, R.E. ; PACHECO, G.
Canine Heartworm disease. The current knowledge
Dept. Vet. sc. ; University of Florida. Gainesville :
1972 ; 101 P.
8. - BURCH, G.R. ; BLAIR, H.E.
A rapid test for the diagnosis of D. immitis
Vet. med : 1951 ; 46 : 128 - 130 P.

9. - CANCEL ; CHAIX.
Filariose du coeur droit chez le chien et de l'artère
pulmonaire du chien
Rev. Vét. et militaire : 1912 ; 327 - 328 P.
10. - CAPRON, A. et Collaborateurs
Le diagnostic immunologique des filarioses : possibilités
nouvelles offertes par l'immunoélectrophorèse.
Path. Biol. : 1968 ; 23 : 1039 - 1045 P.
11. - COLLET, P.
Filariose cardiaque chez le chien
Bull. soc. sc. Vet de Lyon ; 1932 ; 35 : 141 P.
12. - EUZEBY, J.
Diagnostic experimental des helminthoses animales
Vigot Frères - 1958 ; 147 - 166 P.
13. - EUZEBY, J.
Maladies vermineuses des animaux domestiques et leurs con-
séquences sur la pathologie humaine.
Vol 1, némathelminthes, Vigot Frères 1961.
14. - EUZEBY, J. ; LAINE, B.
Sur la périodicité des microfilaires de *D. immitis*,
Vigot Frères 1961. Rec méd. vét. ; 1951, 14, 231 P.
15. - EUZEBY, J.
Diagnostic expérimental des helminthoses animales
tome 1. Généralités - Diagnostic anté mortum
Ed : Informations techniques des services vétérinaires
1981 ; 279 - 298 P.
16. - EUZEBY, J.
Diagnostic expérimental des helminthes animales
tome 2. Diagnostic direct post mortum
Diagnostic indirect.
Ed. Informations techniques des services vétérinaires
1982 ; 309 - 340 P.

17. - FERRG, L.G.
Attempt to Immunise dogs against infection of *D. immitis*.
Gestschisft Bernahart noche; 1937 ; 140 - 142 P.
18. - FIFE, E.H.
Advances in methodology for immune diagnosis of parasitic
diseases. Exp. parasitology 1971 : 30 :
132 - 164 P.
19. - FUGERE, R.
Dirofilaria immitis
th : med. vet. Lyon, 1952
20. - GALVIN, T.J. ; BELL, R.R.
Immunoprolaxis for control of *D. immitis*.
Departement of veterinary parasitology, Texas, dec. 1973
21. - HEALY, G.R. ; KEGAN, I.G.
The prevalence of filariasis in dogs from ATLANTA,
GEORGIE, J. of parasitology, 47, P 290, 1961
22. - HODEBAR, M.
Contribution à l'étude de la filariose canine à "*Dirofilaria*
immitis" en Guyane Française
These méd. vét. 1973, 65, P 78
23. - JACKSON, R.F
Canine heartworm disease
ed. Bradly, R.E and PACHECO G.
Gainesville - USA 1972 ; 129 P.
24. - JACKSON, R.F.
Diagnostic of heartworn disease by examination of
the peripheral blood.
d. of. Am. Vet. Med. An 1965 ; 154 (4) ; 374 - 376 P.

25. - JACKSON, W.F.
Physical examination, anamnnesis and chief complaint,
proceedings of heart warm symposium.
Auburn University - Atlanta : 1974 ; 16 - 19 P.
26. - JACTEL Olivier
Filariose canine : Diagnostic et TT des filarioses
canines : données bibliographiques.
Th. Méd. Vet. Toulouse 1978, 99 P.
27. - KAGAN, T.C.
A Review of immunological methods for the diagnosis of
filariasis.
J. parasitol : 1963 ; 49 : 773 - 799 P.
28. - KAGAN, I.C. ; NORMAN, L. ; ALLAIN, D.S.
An evaluation of the bentonite flocculation and indirect
hemagglutination test for the diagnosis of filariasis.
Am. J. Trop. Med. Hyg : 1963 ; 12 548 - 555 P.
29. - KNOTT
A method of making microfilarial surveys on dog blood
Trans. Roy. Soc. trop. méd. Hyg. : 1939 ; 33, 191 - 196 P.
30. - KOLMER, J.A.
Infection immunity and specific therapy. W.B.
Saunders Co. Philadelphia : 1917 ; 881 P.
31. - KUME, S.
A New chemotherapeutic preparation against filariasis.
J. Jap. Vet. Med. Ass : 1975 ; 2 (9) ; 2 - 3 P.
32. - KUME, S.
Chemotherapy of canine dirofilariasis
Am. J. Vet. Res : 1957, 18 (69), 912 - 923 P.
33. - KUME, S.
Prophylaxis of Dirofilaria immitis infection
Am. J. Vet. Resi 1958, 19 (72), 675 - 676 P.

34. - KUME, S.
Fundamental studies on prophylaxis and Treatment of filariasis.
Jap. J. Vet. Science., 1954 ; 15, 5 - 6 P.
35. - LECHAPT, M.
Contribution à l'étude de la Dirofilariose cardio-vasculaire
à *D. immitis* aux Nouvelles - HEBRIDES.
Th. : Méd. Vét. : Lyon : 1977 ; 34 ; 111 P.
36. - LEE, C.L. ; LEWERT, R.M.
Studies on the presence of mucopolysaccharidose
in penetrating helminth larvae.
J. infect. dis : 1957 ; 101 ; 287 - 294 P.
37. - MAC FADZEAN
Immunity in filariasis of experimental animals
Am. J. tro. méd. Hyg : 1953 ; 2 (1), 85 - 96 P.
38. - MAC NEILSON
Fractionation of a solution somatic extract and solubilized
cuticular extract of dip. Vitae adults worms.
J. of. parasitology : 1975 ; 61 (5), 785 - 793 P.
39. - MANTOVANI, A. ; KAGAN, I.G.
Fractionated *D. immitis* antigens for the differential
diagnostic of canine filariasis.
Am.J. Vet. Res., 1969 ; 28 (122) : 213 - 217 P.
40. - MANTOVANI, A. ; SULZER, A.J.
Indirect fluorescent antibody technique for diagnosis of
canine filariasis. Problem in united states.
Vet. méd : 1957 ; 52 : 75 - 78 P.
41. - MINNING, W. ; MAC FADZEAN, J.A.
Serological investigation in a area of endemic filariasis
in Gambia.
Tr. Roy. soc. trop. méd. Hyg : 1956 ; 50 ; 246 - 254 P.

42. - MONTARON, J.M.
Filarioses canines dans la région d'Alger.
Th. : Méd. Vet. Alfort : 1975.
43. - NELSON, G.B.
Filarial infections as zoonoses.
J. Helminth : 1965 ; 39, 229 - 250 P.
44. - ORIHEL, T.C.
Morphology of the Larvae stages of *D. immitis*
in the dog.
J. parasitology : 1961 ; 47 ; 251 - 262 P.
45. - OTTO, G.F.
Problem in the treatment of heartworm, *D. immitis* in dogs
Mich. Vet. : 1957 ; 17 ; 150 P.
46. - PACHECO, G.
Canine heartworm disease. Discussion of the current
knowledge, Gainesville, 1972.
47. - PACHECO, G.
Professives changes in certain serological responses.
J. of parasitology, 1966 ; 52 ; 311 - 317 P.
48. - PALLOCK, S.
Canine filariasis complicated by albuminuria
North. Am. Vet. J. 1948, 29, 429 P.
49. - RAWLING, C.A
Heartworms Disease dogs and cats
1986, 209 - 227 P.
50. - RAY D. et Coll.
The chronic effects of experimental *D. Immitis* infection
the cats.
Auburn University Publication n° 1872.

51. - SADUN, E. ; COHEN, S.
Immunology of parasitic infection
Blakwell: 1978 ; 397 - 402 P.
52. - SOULSBY, E. J. L. et Coll.
Antigenic stimulus of exsheathing flind in self cure
of sheep infested with haemon
contortus nature (Lond.), 1959 ; 183; 553 - 554 P.
53. - STEIN, F.J. ; LAUTON, H.
Comparison of methodes for diagnosis and differenciacion
of canine filariasis.
J. of Am. Vet. Med. : 1973 ; 163; 140 - 141 P.
54. - TILLY, L. P. ; WILKINS, R.J.
The difil test kit for détection of canine heart -
worm microfilariae.
Vet. Med. ans small An. clinician, 1974 ;
69 (3), 288 - 294 P.
55. - TULLOCH, G.S.
A new approach to the treatment of heartworm
disease in dogs. Proceedings of the heartworm symposium.
Autum Uni. Atlanta 1974, 85 - 86 P.
56. - WANG, Y.H.
Intradermal test with D. immitis antigen in diagnosis
of filariasis.
Chinesemed J., 1964 ; 81 (6), 379 - 383 P.
57. - WEBBER, W.A.F. ; HAWKING, F.
Evolution of adult of Dirofilaria immitis
without microfilaria
exp. Parasitol. 1954, 4, 143 - 164 P.
58. - WEBBER, W.A.F.
Morphology of Dirofilaria immitis
Ann. trop. med. parasitol : 1956 ; 49 (2), 123 P.

59. - WEINSTEIN, P.P.
Survival of adults of *D. uniformis* and their
production of microfilaria
J. Parasitol : 1961 ; 47, 23 - 24 P.
60. - WILCOX, H.S.
Pulmonary arteriotomy for removal of *D. immitis*
in the dog
J. of. Am Vet. Med. Ass. ; 1960 ; 136 ; 128 - 138 P
61. - WINTER, H.
The pathology of canine dirofilariasis
J. of. Am. Vet. Res 1959, 20, 336 - 388 P.
62. - WONG, M.M.
Studies on microfilariae in dog, II levels of micro
filariae in relation to immunologic responses of the host.
A. J. trop. Med. Hyg : 1963 ; 13 ; 66 - 77 P.
63. - WONG, M.M.
Fate and Immunogenicity of irradiated infective larvae
of *D. immitis* in the dog.
Proceedings of the Heartworm symposium.
Uni ATLANTA : 1974 ; 75 - 81 P.
64. - WONG, M.M.
Hypersensitivity phenomena with special reference to
filariasis. Medical conference on parasitic diseases.
Bangkok THAILAND, Mars 1966, 7 - 11 P.
65. - WYLLIE, J.P.
Detection of microfilariose by filter technique
J. of Am. Vet. Med. Ass., 1970 ; 156 ; 1403 - 1405 P.

TABLE DES MATIERES

	PAGES
<u>INTRODUCTION</u> :	1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : DIROFILARIOSE CANINE : DONNES BIBLIOGRAPHIQUES	3
CHAPITRE 1 : ETUDE DU PARASITE.....	4
1. : Taxonomie.....	4
2. : Morphologie du parasite.....	4
2.1 : Description du ver adulte.....	4
2.2 : Description des formes larvaires.....	6
3. : Biologie.....	8
3.1 : Habitat.....	8
3.2 : Nutrition.....	8
3.3 : Longévité.....	8
3.4 : Cycle �volutif.....	10
CHAPITRE 2 : PATHOGENIE ET IMMUNOLOGIE.....	14
1. : Pathogenie.....	14
1.1 : Action pathogène.....	14
1.1.1 : Action mécanique.....	14
1.1.1.1: Les vers adultes.....	14
1.1.1.2: Les microfilaires.....	15
1.1.2 : Action irritative.....	15
1.1.2.1: Les vers adultes.....	15
1.1.2.2: Les microfilaires.....	15
1.1.3 : Action toxique.....	15
1.2 : Conséquences.....	16
1.2.1 : Conséquence cardio-pulmonaire.....	16
1.2.2 : Conséquence nerveuse.....	17
1.2.3 : Conséquences hépatique et rénale.....	17

1.2.4	: Conséquence cutanée.....	17
1.2.5	: Syndrome de la veine cave.....	19
2.	: Immunologie.....	19
2.1	: Propriétés antigéniques des filaires.....	19
2.1.1	: Nature et qualité du matériel antigénique...	19
2.1.1.1	: Antigènes somatiques.....	20
2.1.1.2	: Exoantigènes.....	21
2.1.1.3	: Exemple de préparation antigénique par PACHECO (G.).....	22
2.2	: Réaction immunologique de l'hôte définitif..	23
2.2.1	: Action immunologique défavorable.....	23
-	Réactions anaphylactique et hypersensibilité	23
2.2.2	: Action immunologique favorable.....	24
2.2.2.1	: Immunité à médiation cellulaire.....	24
2.2.2.2	: Immunité à médiation humorale.....	24
2.2.2.3	: Apparition des anticorps témoins : Etude cinétique.....	25
2.2.2.4	: Caractère de l'immunité.....	28
CHAPITRE 3.	: DIAGNOSTIC.....	29
1.	: Techniques de recherche.....	29
1.1	: Prélèvements sanguins.....	29
1.1.1	: Moment du prélèvement.....	29
1.1.2	: Lieu du prélèvement.....	30
2.	: Examen direct.....	30
2.1	: Examen du sang capillaire.....	30
2.1.1	: Examen extemporané à l'état frais.....	30
2.1.2	: Examen différé.....	31
2.1.2.1	: La goutte épaisse.....	31
2.1.2.2	: Le frottis mince.....	32
2.2	: Examen du sang veineux après concentration..	32
2.2.1	: Technique des tubes capillaires.....	33
2.2.2	: Technique de Knott modifiée.....	33
2.2.3	: Technique de filtration.....	34

	PAGES
3. : Examen indirect.....	35
1. : Réaction de fixation du complément.....	35
1.1 : Principe.....	35
1.2 : Technique de Kolmer à 4°c.....	36
2. : Réaction de précipitation en gélose.....	37
3. : l'Immunoélectrophorèse (C I E).....	37
4. : Réaction d'agglutination conditionnée ou passive	38
4.1 : Principe.....	38
4.2 : Réaction d'hemagglutination passive.....	39
4.3 : Test d'agglutination au latex.....	40
4.4 : Test d'agglutination à la Bentonite.....	40
5. : Anaphylaxie cutanée passive (P C A).....	41
6. : l'Immunofluorescence indirecte (I F I).....	42
7. : Réaction d'immuno absorption d'enzyme (ELISA)	43
7.1 : Définition.....	43
7.2 : Principe.....	43
7.3 : Test Anticorps - ELISA.....	44
7.4 : Test Antigène - ELISA.....	47
 <u>DEUXIEME PARTIE</u> : ETUDE EXPERIMENTALE DE LA DIROFILARIOSE	
CANINE PAR LA TECHNIQUE ELISA.....	48
- Objectifs:.....	49
 CHAPITRE 1: MATERIEL ET METHODES.....	
1. : Matériel.....	50
1.1 : Matériel animal.....	50
1.1.1 : Nombre de prélèvement.....	50
1.2 : Matériel de laboratoire.....	50
1.2.1 : Matériel de laboratoire consommé.....	50
1.2.2 : Equipement.....	56
1. : Obtention du sérum.....	56
2. : Application du test sérologique : ELISA.....	57
2.1 : Principe du test antigène - ELISA.....	57
2.2 : Manipulation.....	57

	PAGES
CHAPITRE 2 : RESULTATS.....	60
- Résultats globaux.....	61
- Résultats en fonction du sexe.....	66
- Résultats en fonction de l'âge.....	66
 CHAPITRE 3 : DISCUSSION ET PROPOSITION DE LUTTE.....	 67
1. : Discussion.....	67
1.1 : Matériel.....	67
1.1.1 : Matériel animal.....	67
1.1.2 : Sérum.....	68
1.2 : Méthodes.....	68
1.2.1 : Choix de la technique.....	68
1.2.2 : Application de la technique.....	72
1.2.3 : Interprétation des résultats.....	72
1.2.3.1 : Résultats globaux.....	72
1.2.3.2 : Résultats en fonction du sexe.....	74
1.2.3.3 : Résultats en fonction de l'âge.....	74
1.2.3.4 : Incidence sur la santé publique.....	74
2. : Proposition de lutte.....	75
2.1 : Mesures sanitaires.....	75
2.1.1 : Chez l'hôte définitif.....	75
2.1.2 : Chez l'hôte intermédiaire.....	75
2.2 : Mesures médicales.....	76
 C O N C L U S I O N G E N E R A L E.....	 78
 B I B L I O G R A P H I E.....	 81

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

"Fidèlement attaché aux directives de Claude BOURGELAT, fondateur de l'Enseignement Vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés :

- D'avoir en tous moments et en tous lieux le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire.
- D'observer en toutes circonstances les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie de mon pays.
- De prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire.
- De ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

"QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIREE S'IL ADVIENNE QUE JE ME PARJURE".