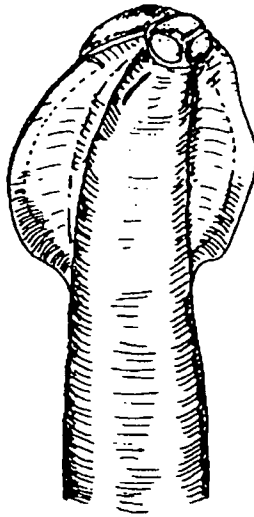


Epidémiologie de la toxocarose dans la région jurassienne



par
JEAN-PAUL JEANNERET
Licencié en Biologie

*Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de
Neuchâtel pour obtenir le grade de docteur ès sciences.*

Jury

Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur	M. Brossard	Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel.
Monsieur le Professeur	A. Aeschlimann	Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel.
Monsieur le Docteur	J.-F. Magnaval	Hôpitaux de Toulouse.
Monsieur le Docteur	B. Gottstein	Institut de Parasitologie, Université de Zürich.

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Epidémiologie de la toxocarose dans la région
jurassienne

de Monsieur Jean-Paul Jeanneret

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL

FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel
sur le rapport des membres du jury,

Messieurs M. Brossard, A. Aeschlimann,
B. Gottstein (Zurich) et J.-F. Magnaval
(Toulouse)

autorise l'impression de la présente thèse.

Neuchâtel, le 4 décembre 1991

Le doyen :



A. Robert

RESUME	6
1. INTRODUCTION	7
1.1. Généralités	7
1.2. <i>Toxocara canis</i>	8
1.2.1. Aspects systématique	8
1.2.2. Morphologie de <i>T. canis</i>	9
1.2.3. Cycle	9
1.2.3.1. Cycle évolutif des Ascaridés	9
1.2.3.2. Cycle de <i>T. canis</i>	10
1.3. <i>T. canis</i> chez l'humain	12
1.3.1. Historique de la toxocarose	12
1.3.2. Aspects cliniques et traitement de la toxocarose	13
1.3.3. Diagnostic de la toxocarose	15
1.3.3.1. Diagnostic biologique non-spécifique	16
1.3.3.2. Immunodiagnostic spécifique	17
1.3.4. Séroprévalence	20
1.4. <i>T. canis</i> chez l'hôte définitif	21
1.4.1. <i>T. canis</i> chez le chien	22
1.4.2. <i>T. canis</i> chez le renard	23
1.4.3. Transmission mère-petits des larves de <i>T. canis</i>	23
1.4.3.1. Transmission trans-placentaire	23
1.4.3.2. Transmission trans-lactaire	24
1.5. <i>T. canis</i> dans les sols	24
1.6. <i>T. canis</i> chez l'hôte paraténique	25
1.7. La toxocarose humaine en Suisse	26
2. BUTS DU TRAVAIL	27

3. MATERIEL ET METHODES	28
3.1. Terrain d'étude	28
3.2. Echantillonnage	29
3.2.1. Des chiens	29
3.2.2. Des renards	29
3.2.3. Des hommes	29
3.2.4. Des sols	30
3.2.5. Des micromammifères sauvages	31
3.2.6. Des bovins	32
3.3. Tests sérologiques	32
3.3.1. Des humains	32
3.3.1.1. ELISA IgG	32
3.3.1.2. ELISA IgE-totaux	32
3.3.1.3. ELISA IgE-spécifiques	33
3.3.1.4. Western-blotting (WB)	33
3.3.2. Des souris de laboratoire	33
3.3.3. Des micromammifères sauvages	33
3.3.4. Des bovins	34
3.4. Eosinophilie	34
3.5. Enquêtes	34
3.5.1. Habitudes alimentaires et comportementales des donneurs de sang	34
3.5.2. Connaissances des médecins sur la toxocarose	35
3.6. Recherche des oeufs de <i>T. canis</i>	35
3.6.1. Dans les selles	35
3.6.2. Dans le sol	35
3.7. Infection artificielle et recherche des parasites	36
3.7.1. Souris de laboratoire	36
3.7.2. Bovins	37
3.7.3. Micromammifères sauvages	38
3.8. Tests statistiques	38

4. RESULTATS ET DISCUSSIONS	39
4.1. <i>T. canis</i> chez l'homme	39
4.1.1. Anticorps anti- <i>T. canis</i> dans la population jurassienne .	39
4.1.1.1. Population adulte (Sérums du Centre de Transfusion Sanguine)	39
4.1.1.2. Population infantine (Sérums des pédiatries) .	39
4.1.1.3. Données épidémiologiques	40
4.1.1.4. Séroprévalence réelle	42
4.1.1.5. Deuxième lot du Centre de Transfusion	43
4.1.2. IgE-totaux et IgE-spécifiques anti- <i>T. canis</i>	44
4.1.2.1. IgE-totaux	44
4.1.2.2. IgE-spécifiques	45
4.1.3. Eosinophilie	45
4.1.4. Western-blotting (WB)	46
4.1.5. Traitement global des résultats sérologiques	47
4.1.6. Habitudes alimentaires et comportementales ds donneurs de sang	48
4.1.7. Discussion: <i>T. canis</i> chez l'homme	49
4.1.8. Conclusions	52
4.2. Enquête sur la connaissance que les médecins ont de la toxocarose	53
4.3. <i>T. canis</i> chez l'hôte définitif	54
4.3.1. Chez le chien	54
4.3.1.1. Chiens de La Chaux-de-Fonds	54
4.3.1.2. Chiens de Neuchâtel	54
4.3.1.3. Chiens de Couvet	54
4.3.1.4. Chiens des Breuleux	55
4.3.1.5. Exploitation des données épidémiologiques . .	55
4.3.2. Prévalence de <i>T. canis</i> chez les renards	56
4.3.3. Discussion	56
4.3.4. Conclusions	57

4.4. Contamination des sols par <i>T. canis</i>	58
4.4.1. Villes et villages	58
4.4.1.1. La Chaux-de-Fonds	58
4.4.1.2. Neuchâtel	59
4.4.1.3. Couvet	60
4.4.1.4. Les Breuleux	61
4.4.2. Aux alentours d'une ferme (La Combe-à-la-Biche) . . .	62
4.4.3. Discussion	63
4.4.4. Conclusions	64
4.5. Hôtes paraténiques expérimentaux et naturels	
de <i>T. canis</i>	65
4.5.1. Hôtes paraténiques expérimentaux (souris blanches) . .	65
4.5.2. Hôtes paraténiques naturels (micromammifères sauvages)	67
4.5.3. Hôtes paraténiques domestiques (bovins)	67
4.5.4. Discussion	69
4.5.5. Conclusions	71
5. DISCUSSION GENERALE	72
5.1. Fonctionnement du foyer jurassien à <i>T. canis</i>	72
5.2. Diagnostic de la toxocarose	76
5.3. Lutte contre <i>T. canis</i>	77
6. CONCLUSIONS	79
ANNEXE I : Questionnaire sur les chiens	81
ANNEXE II : Localisation des prélèvements de sol	82
ANNEXE III : ELISA IgG-spécifiques humain	87
ANNEXE IV : ELISA IgE-totaux humain	98
ANNEXE V : ELISA IgE-spécifiques humain	100

ANNEXE VI	: ELISA souris.	102
ANNEXE VII	: Questionnaire pour les donneurs de sang	104
ANNEXE VIII	: Questionnaire aux médecins	105
ANNEXE IX	: Recherche des oeufs de <i>T. canis</i> dans le sol	106
ANNEXE X	: Recherche des larves de <i>T. canis</i> dans le lait.	107
ANNEXE XI	: Analyses coprologiques de chiens.	109
Remerciements	114
BIBLIOGRAPHIE	115

RESUME.

Dans la région jurassienne (cantons du Jura et de Neuchâtel, districts de Courtelary et Moutier dans le Jura bernois), une étude sérologique sur l'antigène *T. canis* en ELISA IgG a été réalisée chez 6100 adultes donateurs de sang et 501 enfants hospitalisés dans des pédiatries. Selon le seuil considéré (80 ou 50 u), 6 à 9% des individus présentaient des anticorps anti-*Toxocara canis*. La séroincidence est de 2,9% avec une durée moyenne de séropositivité de 3 ans environ.

L'étude séroépidémiologique a montré que les adultes sont beaucoup plus infectés que les enfants (9,9 et 3,6% respectivement) et que chez les campagnards, la séroprévalence est plus élevée que chez les citadins. Alors qu'elle est très marquée en campagne, la différence adultes - enfants s'atténue en ville. Hommes et femmes présentent une même séroprévalence, celle-ci est par contre plus élevée chez les garçons que chez les filles. L'infection des jeunes semble liée à des comportements géophagiques; pour les adultes, d'autres facteurs doivent être pris en compte.

La séroprévalence est plus élevée chez les personnes qui se fournissent en viande et en lait à la ferme. Les agriculteurs, principalement concernés par ces comportements, sont aussi les plus touchés par le parasite (23 à 36% de séropositivité à 80 ou 50 u). Les personnes qui cuisent peu leur viande ou qui la mangent crue sont également plus infectées.

Ces observations nous ont incité à mieux préciser les différentes étapes du cycle de *T. canis* et les mécanismes de l'infection humaine. Des recherches d'oeufs ont été effectuées chez les chiens, les renards et dans les sols de la région.

Six pourcents des chiens sont infestés et 43% des crottes de renards sont contaminées par *T. canis*. Des oeufs du parasite ont été trouvés dans 3 à 17% des sols. Le centre des villes semble plus touché que la périphérie alors que dans les villages, la contamination des sols apparaît plus homogène.

Les sols aux abords immédiats d'une ferme des Franches-Montagnes (La Combe-à-la-Biche) sont très contaminés par *T. canis*. Les campagnols (hôtes paraténiques) piégés aux mêmes endroits, sont aussi très infectés (découverte de larves chez 11% d'entre eux alors que 28% sont séropositifs). Douze pourcents des bovins de cette région sont également séropositifs. Enfin, nous avons démontré la transmission trans-lactaire de larves de *T. canis* chez des souris blanches et des bovins (hôtes paraténiques). Ce passage représente un risque d'infection pour les personnes qui consomment fréquemment du lait cru. L'environnement des agriculteurs, qui sont également les plus infectés, est en réalité un véritable foyer d'infection.

L'infection par *T. canis* est très présente dans la région jurassienne, les cas de toxocarose sont sans doute plus fréquents que ceux diagnostiqués actuellement (4 cas recensés en 1989 par exemple). Les médecins doivent être sensibilisés à cette maladie et porter une attention toute particulière aux paysans. La parasitose devrait être contrôlée par une vermifugation systématique des chiens dès leur jeune âge.

Mots clés:

Toxocara canis, toxocarose, séroépidémiologie, ELISA, chien, renard, souris, bovin, campagnol, sol, transmission trans-lactaire.

1. INTRODUCTION.

1.1. Généralités.

L'étendue géographique des parasitoses, ainsi que le nombre de victimes humaines et animales, justifieraient la mise en oeuvre de moyens importants pour parvenir à un contrôle efficace de ces infections. Les interventions chimiques massives contre les parasites ou contre leurs vecteurs sont souvent néfastes; c'est pourquoi, de nombreux scientifiques sont convaincus de la nécessité d'une lutte intégrée. La tendance actuelle consiste à mettre en place des moyens de lutte biologiques ou biologico-chimiques plus respectueux de l'environnement et des équilibres naturels. Cette approche exige une connaissance très complète des organismes que l'on veut combattre ainsi que de leur biotope.

Les cycles parasitaires paraissent simples au premier abord. Pourtant, les mécanismes qui permettent l'installation d'un agent infectieux chez ses hôtes sont souvent difficiles à cerner. L'accent doit donc être porté plus particulièrement sur la recherche fondamentale avant d'envisager la mise en place de programmes de lutte.

Dans les pays industrialisés, l'amélioration sensible de l'hygiène individuelle et la diminution des contacts de l'homme avec le milieu naturel se sont traduits par une réduction considérable des risques d'infections. Les parasitoses avec des implications cliniques (échinococcoses, distomatoses, trichinellose, taeniasés, amibiase par exemple) restent occasionnelles. Les malarías, les bilharzioses, les filarioses et autres parasitoses exotiques, bien que plus importantes sur le plan de la santé mondiale, sont parfois importées dans nos régions. Seules les personnes en provenance de pays tropicaux ou ayant le plus souvent des pratiques nutritionnelles particulières (ingestion de viande crue, de viande de chien ou de chat) sont très exposées aux parasites.

L'augmentation du nombre d'animaux de compagnie et la place qu'ils prennent dans la société ont recréé un terrain favorable à la contamination humaine par certaines anthroponozoonoses. Malgré l'aseptisation du milieu, la présence d'animaux domestiques dans les foyers et les relations de type parents-enfants qu'ils partagent avec les humains, permettent aux parasites de conserver une voie de transmission efficace. Ces comportements créent de réels problèmes de santé publique qui, malgré les difficultés inhérentes à leur étude, méritent toute notre attention.

Deux parasitoses de nos régions sont particulièrement favorisées par cet environnement épidémiologique: la toxoplasmose et la toxocarose. Leur agent

étiologique est généralement caractérisé par un faible pouvoir pathogène et une forte prévalence chez l'hôte définitif.

Bien qu'étant une parasitose autochtone, la toxocarose était jusqu'à présent peu étudiée dans notre pays. La faible spécificité des manifestations cliniques, la mauvaise efficacité des traitements et l'utilisation difficile de techniques directes de diagnostic expliquent cette méconnaissance. La maladie est dédaignée par la plupart des médecins qui préfèrent s'occuper de problèmes de santé plus aigus.

La toxocarose est la conséquence de l'égarement dans les tissus humains de larves de nématodes du genre *Toxocara*. L'agent étiologique généralement incriminé est *Toxocara canis*, que nous allons décrire plus précisément avant d'aborder la problématique de la maladie humaine.

1.2. *Toxocara canis*.

1.2.1. Aspects systématiques.

La plupart des larves retrouvées dans les biopsies de tissu humain appartiennent à l'espèce *T. canis*. Nous ne pouvons toutefois exclure la possibilité d'une infection par d'autres vers systématiquement proches. Nous allons donc présenter quelques aspects systématiques des Ascaridés en général.

Selon Barnes (1984), la position taxonomique de ces helminthes est la suivante:

Phylum	:	<i>Nematoda</i>
Classe	:	<i>Secernentea</i>
Ordre	:	<i>Ascaridida</i>
Famille	:	<i>Ascaridae</i>
Genres	:	<i>Toxocara</i> mais aussi <i>Ascaris</i> , <i>Neoascaris</i> , <i>Parascaris</i> , <i>Toxascaris</i>

Les Ascaridés sont caractérisés par leur grande taille (5 à 25 cm sur 1,5 à 5 mm), leur cuticule épaisse, la présence sur la bouche de trois lèvres bien développées. Leurs oeufs sont globuleux ou ellipsoïdes et ont une coque épaisse.

Ils peuvent être séparés en deux groupes:

- 1) Les parasites des herbivores et omnivores. Mentionnons entre autres, *Ascaris lumbricoïdes* chez l'homme, *Ascaris suum* chez le porc, *Parascaris equorum* chez le cheval et *Neoascaris vitulorum* chez le bovin. Les ovins et les caprins sont rarement porteurs d'*Ascaris* mais peuvent être quelques fois infestés par *A. suum*. La spécificité de ces parasites est relativement faible, il n'est pas rare qu'un ver adulte s'établisse chez un hôte d'une espèce qu'il ne parasite habituellement pas.
- 2) Les parasites des carnivores qui ont une spécificité forte: *T. canis* chez le chien, le renard et le loup, *Toxocara cati* chez le chat et *Toxascaris leonina* chez les quatre espèces. Ces vers ne se retrouvent qu'exceptionnellement chez d'autres espèces.

Les Ascaridés adultes ont pour habitat normal l'intestin grêle de leur hôte. Ils ne vivent pas fixés à la paroi intestinale, mais libres dans la lumière du tube digestif en se nourrissant du chyme intestinal environnant. Aux stades larvaires, ils accomplissent des migrations dans l'organisme.

1.2.2. Morphologie de *T. canis*.

T. canis, anciennement appelé *Belascaris marginata*, a été décrit pour la première fois par Werner en 1782. La description suivante est tirée de Euzeby (1963).

A l'état adulte, le ver, de couleur blanchâtre, mesure entre 5 et 12 cm de longueur. Il est incurvé aux deux extrémités pour former deux courbures de sens opposés. Cette morphologie lui donne l'allure d'un S très allongé. Il possède deux ailes céphaliques, grossièrement striées, longues, étroites et progressivement atténuées en arrière. Ces appendices donnent au ver un aspect de fer de lance. Les mâles possèdent deux spicules (à la place d'ailes caudales) qui mesurent de 750 à 900 μm .

Les oeufs sont globuleux, leur diamètre varie de 75 à 80 μm . Ils sont pondus non segmentés.

1.2.3. Cycle.

1.2.3.1 Cycle évolutif des Ascaridés.

Ces vers sont très prolifiques (200'000 - 240'000 oeufs par jour pour une femelle d'*A. lumbricoïdes* selon Sinniah, 1982). L'accouplement des mâles et des femelles

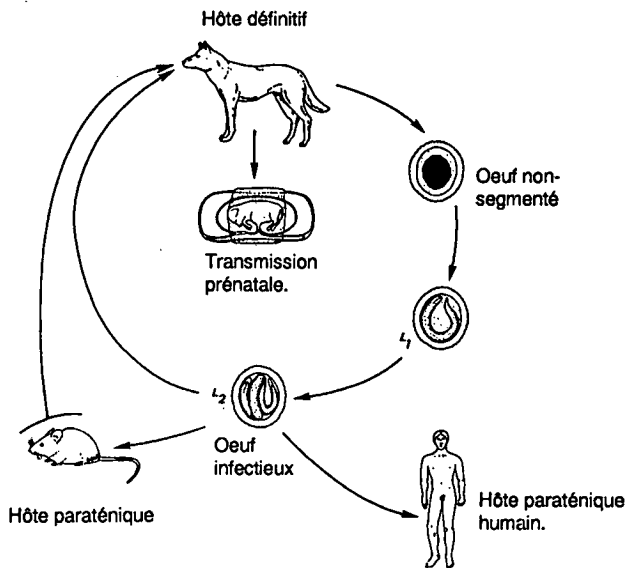


Fig. 1. Cycle général de *T. canis* (Modifié d'après Mehlhorn, 1988).

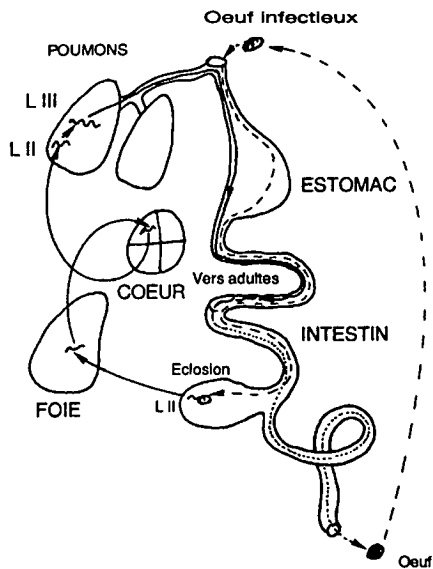


Fig. 2. Migration entéro-pneumo-trachéo-entérale chez *T. canis* (D'après Euzéby, 1963).

s'effectue dans la lumière intestinale et les oeufs sont émis dans le milieu extérieur par les selles de l'hôte. Une première phase, dite exogène, se déroule dans le sol. Cette étape nécessite la présence d'oxygène, une température variant entre 15 et 30°C, ainsi qu'une humidité de 90 à 95% (à 30°C). Lorsque ces conditions sont réunies, l'embryogenèse peut s'effectuer et donne une larve de premier stade (L I) rhabditoïde. Une mue *intra-ovus* fait ensuite apparaître une larve de stade II (L II), rhabditoïde également.

La deuxième phase, dite endogène, débute au moment de l'ingestion des oeufs par un individu réceptif. En général, chez les nématodes, seule la larve III est infestante pour son hôte définitif. Les Ascaridés n'échappent pas à cette règle car les L II ingérées ne peuvent s'installer directement dans l'intestin de leur hôte définitif. Elles doivent d'abord effectuer un cycle somatique dans les tissus de l'animal et ce n'est qu'à la fin de cette migration qu'elles pourront muer. La L III rejoint alors le tractus intestinal pour y effectuer les dernières mues et parvenir au stade adulte.

1.2.3.2. Cycle de *T. canis*.

Le cycle de *T. canis* est présenté sur la **figure 1**. Il est divisé en deux parties.

a) Cycle exogène de *T. canis*.

Le cycle exogène du parasite est identique à celui de la majorité des Ascaridés (voir ci-dessus). Mais, en plus de l'infestation de l'hôte définitif canin par ingestion directe des oeufs, une deuxième voie est possible: le passage par un hôte paraténique (par exemple un micromammifère).

Les humains sont des hôtes paraténiques pour le parasite car, après ingestion des oeufs, les L II migrent dans leurs tissus. Ils deviennent ainsi potentiellement infectieux pour les canidés. Toutefois, avec plus de réalisme, nous avons à faire à une impasse parasitaire car l'ingestion de viande humaine par un chien n'est certes pas courante.

b) Cycle endogène de *T. canis* dans l'hôte définitif.

La partie du cycle dans l'hôte définitif peut se dérouler selon deux variantes qui sont fonction de l'âge du canidé.

1) Migration entéro-pneumo-trachéo-entérale, voir **figure 2** (Euzeby, 1963).

Cette migration est la plus répandue et probablement la plus ancestrale chez les Ascaridés. On la retrouve notamment chez *A. suum*, *A. lumbricoïdes* ainsi que chez *T. canis* pour les très jeunes canidés (Sprent, 1958).

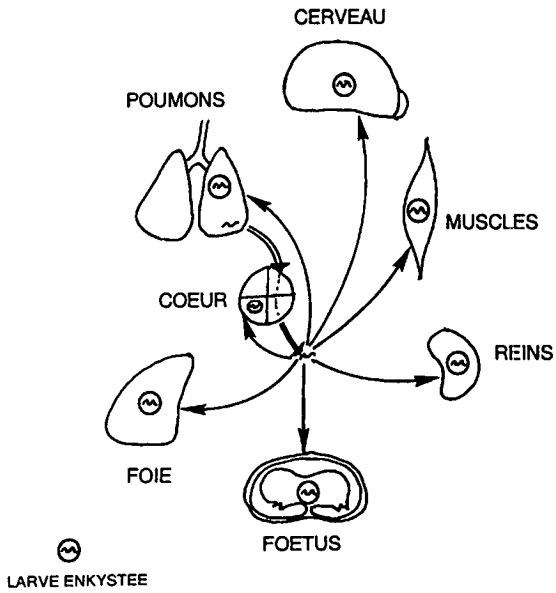


Fig. 3. Migration pneumo-somatique chez *T. canis* (D'après Euzéby, 1963).

La larve II franchit la paroi intestinale au niveau du caecum et se libère de sa gaine. Elle est ensuite transportée jusqu'au foie par le système porte ou par le système lymphatique, puis au coeur droit par la veine cave postérieure. De là, elle est propulsée aux poumons (artère pulmonaire) et s'arrête dans les capillaires pulmonaires. Une mue la transforme alors en une L III d'environ 400 µm qui pénètre dans les alvéoles pulmonaires. La L III représente le véritable stade infestant pour l'hôte définitif. Une nouvelle mue permet à la L IV (800 à 900 µm) de remonter la trachée pour être déglutée. Ce retour à l'intestin est le siège d'une dernière mue en L V, ver immature, qui préfigure les adultes capables de s'accoupler.

Sur cette dernière partie du cycle, les avis divergent. Selon Webster (1958), c'est au stade L III que les larves de *T. canis* sont dégluties. Ces larves parviendraient sous cette forme dans l'estomac et mueraient après plusieurs jours seulement.

2) Migration entéro-pneumo-somatique.

Ce mode de migration, qui n'est qu'une variante évolutive du précédent, y reste associé. Nous le retrouvons chez *T. canis* pour les chiots de plus de trois mois (Webster, 1958) et chez *N. vitulorum* pour les veaux (Euzéby, 1963).

La première partie du cycle est identique à la migration entéro-pneumo-trachéo-entérale jusqu'aux poumons de l'hôte. Ensuite, plutôt que de pénétrer dans les cavités pulmonaires, les larves sont entraînées au coeur gauche qui les distribue dans la circulation générale (figure 3). Elles s'enkystent dans divers tissus et viscères (muscles, reins, encéphale, poumons, foie, glandes mammaires) et sont capables d'y survivre plusieurs mois, voire plusieurs années.

Les L II en "dormance" sont réactivées chez les femelles de canidés portantes. Elles peuvent alors infecter le fœtus en gagnant le placenta par voie sanguine (transmission trans-placentaire) ou infecter les jeunes chiots par passage dans les glandes mammaires (transmission trans-lactaire).

Chez les hôtes paraténiques, le parasite s'enkyste également dans les tissus. Il attend l'ingestion de son hôte par un prédateur canin pour poursuivre son cycle jusqu'à l'état adulte.

1.3. T. canis chez l'humain.

1.3.1. Historique de la toxocarose.

En 1921 déjà, Fülleborn évoquait la possibilité d'une infection humaine par la larve de *T. canis*. Pendant les trois décennies suivantes, de nombreux auteurs décrivent une hyperéosinophilie sanguine chronique chez des enfants, en liaison avec des troubles tels que fièvres et infiltrats pulmonaires. Au début des années cinquante, les observations se précisèrent et plusieurs auteurs mirent en évidence des larves de nématodes dans des biopsies de tissus humains (Zuelzer et Apt, 1949; Mercier *et al.*, 1950; Behrer, 1951). *A. lumbricoïdes* fut alors incriminé. Calhoun (1937) décrit un nématode dans un oeil humain. Wilder (1950) effectua une recherche rétrospective sur des yeux de patients énucléés. Il découvrit des larves de nématodes dans des granulomes éosinophiliques que Nichols (1956) identifia comme *T. canis*.

En 1952, Beaver *et al.* démontrèrent, de manière indiscutable, l'existence de larves de *T. canis* dans le foie de patients qui présentaient une hyperéosinophilie sanguine. Les parasites étaient localisés à l'intérieur de granulomes. Le terme de "Larva migrans" fut proposé pour désigner cette affection. En 1953, Smith et Beaver administrèrent des oeufs embryonnés de *T. canis* à des enfants qui présentèrent rapidement une éosinophilie sanguine élevée et persistante. Quelques années plus tard, Chaudhuri et Saha (1959) montrèrent, chez des volontaires, qu'une ingestion de cent oeufs infectieux seulement suffisait à induire une telle réponse.

En 1956, Beaver proposa le terme de "Larva migrans viscérale" (LMV ou VLM "Visceral larva migrans" chez les anglo-saxons) pour désigner l'effet pathologique dû à l'invasion des tissus humains par des larves de stade II du genre *Toxocara*. Par la suite, de nombreux auteurs confirmèrent la présence de telles larves chez l'homme (Mok, 1968; Zinkham, 1978; Poldermann *et al.*, 1980; Glickman et Schantz, 1981; Molk, 1983; Glickman *et al.*, 1986). D'autres espèces d'Ascaridés furent également incriminées. Moorhouse (1982) suspecta un *Ascaris* de chauve-souris (*Toxocara pteropodis*) comme agent responsable de la "Palm Island Mystery Disease", une mystérieuse épidémie d'hépatites observée sur la petite île de Palm en Australie. Un Ascaridé, parasite du raton-laveur, *Baylisascaris procyonis*, fut également observé dans des tissus humains; plusieurs cas mortels lui furent même attribués (Fox *et al.*, 1985; Huff *et al.*, 1985; Kazacos, 1986).

L'atteinte oculaire fut désignée par le terme de "Larva migrans oculaire" (LMO ou OLM chez les anglo-saxons). Ehrhard et Kernbaum (1979) citèrent plus de 120 publications décrivant au total 350 cas de toxocarose viscérale et 430 de toxocarose oculaire recensés jusqu'alors. Cette compilation était tirée de données couvrant 46 pays sur toute la surface du globe.

De nombreux cas de LMV et de LMO ont donc été décrits. La volonté de prouver l'infection s'est traduite par le recours de plus en plus fréquent à des tests de laboratoire. Or, la difficulté de détecter les larves, ainsi que la faible spécificité des tests sérologiques utilisés jusqu'alors (tests cutanés, agglutination, immunoelectrophorèse par exemple) ne répondaient pas à l'attente des médecins.

De Savigny (1975) tenta d'affiner la méthodologie du diagnostic sérologique. Il maintint des larves de *T. canis* en culture dans un milieu minimum et récolta leurs sécrétions qu'il baptisa antigènes Excrétés-Sécrétés (ES). Il les utilisa dans un test enzymatique (ELISA) qui améliora considérablement le diagnostic de cette parasitose (De Savigny *et al.*, 1979). La spécificité des méthodes utilisant les ES était très nettement supérieure à celle utilisant d'autres antigènes tels qu'extraits de vers adultes, de larves et d'oeufs embryonnés de *T. canis* ou encore d'utérus d'*A. suum* (Poldermann *et al.*, 1980; Knapen *et al.*, 1982).

L'absence de méthodes parasitologiques efficaces pour confirmer la présence du parasite chez les malades ne permet de donner que des approximations de la sensibilité et de la spécificité des sérologies. Malgré cette lacune, le test ELISA avec les antigènes ES de *T. canis* est très fréquemment utilisé aussi bien pour le diagnostic que lors d'enquêtes épidémiologiques (Schantz, 1989). Il a été employé aux Etats Unis, au Canada, en Amérique du Sud, en Europe de l'Ouest et de l'Est, en Australie, en Nouvelle-Zélande et au Japon (Carlier *et al.*, 1982; Knapen *et al.*, 1982; Matsumura et Endo, 1983; Clemett *et al.*, 1985; Guillen-Llera *et al.*, 1985).

L'utilisation de deux lots d'antigènes ES, préparés et testés dans des laboratoires différents, n'a fait apparaître que de minimes variations des résultats de l'ELISA (Speiser et Gottstein, 1984). Les études faites par Maizels *et al.* (1984), Badley *et al.* (1987) et Ramp *et al.* (1987) ont confirmé l'identité presque parfaite des antigènes produits dans différents laboratoires. La reproductibilité de ces expériences laisse entrevoir de bonnes perspectives dans la standardisation du test.

Ainsi, la problématique de la toxocarose a été mieux cernée depuis l'utilisation de l'ELISA ES en épidémiologie.

1.3.2. Aspects cliniques et traitement de la toxocarose.

Les manifestations cliniques de la toxocarose humaine dépendent du nombre d'oeufs de *T. canis* ingérés, de la fréquence des réinfections et de la distribution des larves dans les tissus (Schantz et Glickman, 1978). Cette symptomatologie est liée aux dégâts directs causés aux tissus par les larves, mais également à des réactions de type allergique.

CLINIQUE		BIOLOGIE	
	Enfants	Adultes	
Hépatomégalie	79%	47%	Hyperéosinophilie > 400 mm ³ 100%
Troubles respiratoires	72%	42%	Hyperéosinophilie > 5000 mm ³ 76%
Fièvre	69%	71%	Leucocytose 84%
Malnutrition	46%	36%	Hyper gammaglobulinémie > 12g/l 82%
Troubles digestifs	44%	60%	Hyper gammaglobulinémie > 30g/l 74%
Asthénie	38%	63%	Anticorps hétérophiles 74%
Troubles neurologiques	36%	33%	Sérologie spécifique positive
Splénomégalie	35%	18%	(tests divers sans ELISA ES) 68%
Anorexie	31%	30%	Présence d'ischémagglutinines
Pâleur	29%	12%	immunes 63%
Signes cutanés	23%	29%	Anémie 63%
Adénopathies	21%	19%	Hypoalbuminémie (< 40g/l) 62%
Oedèmes	13%	5%	Larves à la biopsie hépatique 37%

Tab. 1. Symptomatologie clinique et biologique de la toxocarose, formes majeures (d'après Erhard et Kernbaum, 1979). Les valeurs indiquent le pourcentage de personnes malades correspondant à chaque critère clinique ou biologique.

CLINIQUE		BIOLOGIE	
Asthénie	74%	Sérologie ELISA ES positive	100%
		Présence d'IgE anti-Toxocara	78%
Manifestations allergiques:		Hyper IgE totaux	69%
- cutanés	60%	Hyperéosinophilie	59%
- neurologiques (migraines)	47%	Augmentation vitesse de	
- pulmonaires et O.R.L.	24%	sédimentation	35%
- oculaires (conjonctivite)	12%	Hyper gamma glutamate	
		transférase	31%
Troubles digestifs	48%	Augmentation des IgM totaux	25%
Hépatomégalie	5%	Augmentation des IgA totaux	20%
		Augmentation des IgG totaux	11%

Tab. 2. Symptomatologie clinique et biologique de la toxocarose, formes mineures (d'après Magnaval, 1989). Les valeurs indiquent le pourcentage de personnes malades correspondant à chaque critère clinique ou biologique.

Une faible dose infectante n'entraîne généralement pas de signes cliniques particuliers, mais s'accompagne d'un accroissement rapide et important de l'éosinophilie sanguine qui reste élevée pendant plus d'une année (Smith et Beaver, 1953). Une infection plus massive provoque les troubles résumés dans les **tableaux 1 et 2**.

MagnaVal (1989) définit trois types de toxocarose:

1) toxocarose maladie, formes majeures:

Avec un cas clinique pour 10'000 infections et une incidence de 2 par million, cette affection est rare. On la trouve préférentiellement chez de jeunes enfants. Sa symptomatologie est présentée dans le **tableau 1**.

2) toxocarose maladie, formes mineures:

Plus fréquente, elle se rencontre chez l'adulte comme chez l'enfant. Sa symptomatologie est présentée dans le **tableau 2**.

3) toxocarose infestation:

De loin la plus fréquente, elle est signalée par un diagnostic sérologique spécifique. Toxocarose asymptomatique, elle provient d'un contact limité entre l'homme et le parasite.

En complément à ces trois formes, l'atteinte oculaire (LMO) survient en général lors d'une infection limitée. La faible stimulation du système immunitaire permettrait aux larves d'atteindre l'oeil et de pénétrer dans l'humeur vitrée (Glickman et Schantz, 1981). Pour MagnaVal (1989), la LMO juvénile est fréquemment synonyme d'une baisse de l'acuité visuelle. Les principaux signes évocateurs sont le granulome du pôle postérieur, le granulome en périphérie de la rétine, l'uvéite et l'atteinte inflammatoire périphérique. D'éventuelles manifestations d'endophtalmie peuvent faire craindre un rétinoblastome.

La LMO touche en majorité des adolescents ou des adultes jeunes, elle n'est le plus souvent pas associée à une LMV. Les granulomes sont générés par réaction aux antigènes ES que produisent les larves qui peuvent survivre pendant une année dans l'oeil (Molk, 1983). Le parasite induit une production locale d'anticorps spécifiques de classe IgG et IgE, dont les taux peuvent être plus élevés que dans le sérum (Bigland *et al.*, 1979; Felberg *et al.*, 1981).

Selon MagnaVal (1989), les conditions de traitement de la maladie ne sont pas clairement définies. En cas d'affection mineure ou de toxocarose infestation, la guérison est en général spontanée. Mais pour les formes majeures, qui sont beaucoup plus rares, un traitement s'impose. Les médicaments utilisables sont les

Auteur	Année	Tests	Provenance de l'antigène	Stades parasitaires
Kagan et al.	1959	Flocculation à la bentonite	<i>A.lumbricoides</i> , <i>Toxocara sp.</i>	Adultes
Jung et Pachero	1960	Hémagglutination indirecte	<i>A.lumbricoides</i> , <i>T.canis</i>	Adultes
Olson	1960	Précipitation sur larves	<i>T.canis</i> , <i>Ascaris sp.</i>	Larves
Huntley et Moreland	1963	Diffusion sur gel	<i>Toxocara sp.</i> , <i>Ascaris sp.</i>	Adultes
Hogarth-Scott	1966	Précipitation sur larves	<i>T.canis</i> , <i>T.cati</i> , <i>T.leonina</i>	Larves
Jeska	1967	Diffusion sur gel, Immunoélectrophorèse	<i>T.canis</i> , <i>A.lumbricoides</i> , <i>A.suum</i>	Adultes
Bisseru et Woodruff	1968	Immunofluorescence indirecte	<i>T.canis</i>	Larves, oeufs
Wiseman et al.	1969	Tests cutanés	<i>T.canis</i>	Adultes
Fernando et Vasudevan	1970	Diffusion sur gel, Immunoélectrophorèse	<i>T.canis</i> , <i>A.lumbricoides</i>	Adultes, oeufs
Aljebouri et Ivey	1970	Hémagglutination indirecte	<i>T.canis</i> , <i>Ascaris sp.</i>	Larves, adultes
Tettamanti et al.	1972	Immunofluorescence indirecte Fixation du complément	<i>T.canis</i>	Larves
Annen et al.	1975	Idem	<i>T.canis</i>	Larves
Collins et Ivey	1975	Tests cutanés	<i>T.canis</i> , <i>A.suum</i>	Larves, adultes
Viens et al.	1975	Immunofluorescence indirecte	<i>T.canis</i>	Larves, adultes
Ruitenbergh et al.	1976	Immunofluorescence indirecte Fixation du complément	<i>T.canis</i>	Adultes
Hogarth-Scott et Feery	1976	Tests cutanés	<i>T.canis</i> , <i>A.lumbricoides</i>	Larves
Zyngier	1976	Diffusion sur gel	<i>T.canis</i> , <i>A.lumbricoides</i> , <i>A.suum</i>	Adultes
Cypess et al.	1977	Diffusion sur gel	<i>T.canis</i> , <i>A.suum</i>	Larves, adultes, oeufs
Glickman et al.	1978	Flocculation à la bentonite	<i>T.canis</i>	Larves
Magnaval et al.	1986	Immunoélectrophorèse	<i>A.suum</i>	Adultes (utérus)

Tab. 3. Tests immunologiques mis au point par différents auteurs.

corticoïdes (réduction du processus inflammatoire) et les anthelminthiques. Parmi ces derniers, les benzimidazoles (Fluoromébandazole, Mébandazole, Thiabendazole) perturbent le métabolisme du glucose du ver. Cette action est limitée, car elle n'atteint pas les larves enkystées dans les tissus (Magnaval, 1989). La diéthylcarbazine augmente la cytotoxicité des neutrophiles et des éosinophiles. Son efficacité a été démontrée sur des microfilaires *in vitro*, et son utilisation semble prometteuse dans le traitement de la toxocarose.

Toujours selon Magnaval (1989), l'utilisation de corticoïdes et d'anthelminthiques peut être prescrite dans les LMO. En cas d'échec, la vitrectomie est recommandée.

Notre étude de la toxocarose en région jurassienne est basée sur la détection des anticorps IgG-spécifiques lors d'une enquête séroépidémiologique. Des compléments d'information sur un nombre limité de personnes sont apportés par la détection des IgE-totaux, de l'éosinophilie sanguine, des IgE-spécifiques et par Western-blotting). Afin d'interpréter ces résultats, nous allons aborder le problème du diagnostic de la toxocarose.

1.3.3. Diagnostic de la toxocarose.

Le diagnostic clinique de la toxocarose est en fait très incertain. Seule l'observation directe de larves dans des biopsies permettrait de certifier une infection. Mais les difficultés inhérentes à cette technique et le côté aléatoire des résultats ont incité à la mise au point de méthodes indirectes.

En laboratoire, on peut suspecter une toxocarose lors d'une hyperéosinophilie sanguine, d'une hyperglobulinémie à IgM essentiellement, mais aussi lors d'une élévation des IgE-totaux ou d'une augmentation de la vitesse de sédimentation (Erhard et Kernbaum, 1979). Le manque de spécificité de ces observations a nécessité la recherche de méthodes diagnostiques plus précises.

Les premiers tests immunologiques utilisaient, comme antigène, des extraits somatiques de *T. canis* ou d'autres vers. Le **tableau 3** résume, dans l'ordre chronologique, les méthodes utilisées par les différents auteurs. La sensibilité de ces tests était médiocre, et la spécificité, par l'utilisation d'antigènes trop complexes, était insuffisante.

La réponse immunitaire d'un hôte infecté par *T. canis* est principalement dirigée contre les antigènes ES libérés par les larves. En 1975, la mise en culture des larves et la récolte des ES par De Savigny fut à l'origine d'une spectaculaire amélioration de la précision des techniques. Les ES furent utilisés dans un test ELISA IgG (De Savigny *et al.*, 1979). Sugane et Oshima (1984) recherchèrent les

IgE-spécifiques par la même technique. Enfin, Magnaval (1989) se pencha sur la mise au point d'un Western-blotting dans l'immunodiagnostic de la toxocarose.

1.3.3.1. Diagnostic biologique non-spécifique.

Plusieurs valeurs biologiques sont élevées chez les patients atteints d'une toxocarose. Nous en commenterons deux qui nous paraissent essentielles:

- Hyperéosinophilie sanguine.

Beaver, *et al.* (1952) ont les premiers suspecté des cas de LMV. Il s'agissait d'enfants qui présentaient des hyperéosinophilies sanguines chroniques inexpliquées, associées à des lésions granulomateuses du foie. Smith et Beaver (1953) ont infecté artificiellement des enfants mentalement retardés avec 200 oeufs de *T. canis*. Alors que les enfants ne présentaient aucun trouble, des pics d'éosinophilie sanguine atteignant 50% furent observés après un mois. L'expérience, répétée sur un volontaire, montra une élévation des taux d'éosinophiles jusqu'à 62% quatre semaines après l'infection, ceux-ci se stabilisèrent entre 40 et 50% durant les mois qui suivirent (Chaudhury et Saha, 1959).

D'après Beaver (1962), 4/5 des patients atteints de LMV présentent des éosinophilies supérieures à 50%, 1/5 des taux même supérieurs à 60%. En moyenne, les malades conservent une hyperéosinophilie au moins égale à 30% pendant plus d'un an. Plusieurs auteurs ont confirmé ces observations en démontrant des syndromes de LMV chez des enfants hyperéosinophiliques (Snyder, 1961; Shrand, 1964; Huntley *et al.*, 1965).

Ehrhard et Kernbaum (1979) ont observé des valeurs plus élevées encore: 5% des patients atteints de toxocarose présentent une éosinophilie supérieure à 98%, 30% supérieure à 81%, 50% supérieure à 52% et 80% supérieure à 13%. Pour ces auteurs, l'hyperéosinophilie est considérée comme le signe cardinal de l'infection. Portùs *et al.* (1989) ont testé en ELISA ES 99 patients ayant montré une hyperéosinophilie inexpliquée. Onze pourcents des adultes et 29% des enfants (moyenne générale de 14%) présentaient des anticorps anti-ES de *T. canis*.

Dans les syndromes de LMO, l'éosinophilie reste au contraire normale (Shrand, 1964).

- IgE-totaux.

Dans le sérum de personnes non-atopiques, les concentrations d'IgE-totaux sont de l'ordre de 5 ng/ml (Roitt *et al.*, 1985). Les valeurs sont généralement exprimées en unités internationales (1 UI = 2,4 ng).

Dans le cas d'une infection à *T. canis*, on pourrait s'attendre à ce que les IgE-totaux soient potentialisés. En effet, des rats immunisés contre l'ovalbumine, molécule très peu immunogénique, puis infestés par le nématode *Nippostrongylus brasiliensis*, produisent des anticorps IgE contre l'ovalbumine en quantité beaucoup plus élevée que des témoins (Orr et Blair, 1969; Jarrett, 1972). Les helminthes ont ainsi le pouvoir de déclencher une activation polyclonale des lymphocytes avec une production d'anticorps IgE dirigés contre des antigènes qui leur sont étrangers (Jarrett et Stewart, 1972; Ishizaka *et al.*, 1976). Les basophiles et les mastocytes étant alors saturés en IgE non-spécifiques, le parasite échapperait aux conséquences de la dégranulation de ces cellules (Bloch *et al.*, 1985). L'importance de la potentialisation des IgE semble être déterminée génétiquement (Barriga, 1988).

Peu après la découverte des IgE, appelés alors "réagines", la présence de ces anticorps a été observée dans les helminthiases et les protozooses tissulaires (Johansson *et al.*, 1968 a et b; Rademecker *et al.*, 1974; Paulin *et al.*, 1981). Des taux sériques de 1'210 UI/ml ont été mesurés chez des patients atteints de schistosomiase, de 3'400 UI/ml chez patients atteints de paragonimose, de 2'960 UI/ml chez un patient atteint de fasciolose (Kojima *et al.*, 1972). Rappelons que les taux normaux ne dépassent pas 100 UI/ml, tandis que chez les personnes allergiques, les taux varient entre 100 et 300 UI/ml.

Les personnes atteintes de telles affections parasitaires deviennent fréquemment asthmatiques. Tullis (1970) a observé une forte prévalence d'*I. lumbricoïdes* chez des personnes hospitalisées pour asthme.

La toxocarose n'échappe pas à ce phénomène de potentialisation, les taux d'IgE sériques étant également élevés dans ce cas (Hogarth-Scott *et al.*, 1969; Patterson *et al.*, 1975; Desowitz *et al.*, 1981; Brochier *et al.*, 1984).

1.3.3.2. Immunodiagnostic spécifique.

L'emploi généralisé des antigènes ES dans l'immunodiagnostic de la toxocarose a fortement contribué à améliorer la sensibilité et la spécificité des tests de dépistage. Glickmann *et al.* (1978) ont observé une sensibilité de 78% pour l'ELISA contre 18% pour l'IHA (Immuno Hémagglutination Active), 26% pour la BF (Bentonite Flocculation) et 65% pour l'Oucherlony. La spécificité, par contre, est supérieure à 92% pour tous les tests. La valeur de prédiction de l'ELISA est supérieure à 85%. Schantz (1989) a obtenu des résultats proches de ceux établis par Speiser et Gottstein (1984), soit 73% de sensibilité et 95% de spécificité.

- ELISA IgG

Parmi les helminthes, les homologues antigéniques sont légion. Les anciennes méthodes immunologiques de détection de la toxocarose qui utilisaient des extraits de vers adultes, des extraits de larves ou d'oeufs embryonnés comme antigène, se sont révélées peu spécifiques (Cypess *et al.*, 1977; Tettamanti *et al.*, 1972; Speiser et Weiss, 1979). Une absorption des immunosérums sur un extrait d'*Ascaris sp.* semble améliorer la spécificité des tests (Cypess et Glickmann, 1978; Lynch *et al.*, 1988). Mais Bundy *et al.* (1987) n'observent aucune variation des résultats après absorption des sérums sur des antigènes d'*Ascaris sp.* et de *Trichiuris sp.*

En ELISA ES, 17% des patients atteints d'échinococcoses et 13% de filarioses réagissent sur les antigènes toxocariens (Speiser et Gottstein, 1984). Portùs *et al.* (1989) ont fait les mêmes remarques chez 3% des patients atteints d'hydatidose. Knapen *et al.* (1983) observent des réactions croisées dans le cas d'ascaridose, d'hydatidose, de filarioses et de schistosomiasis. Enfin, Ott *et al.* (1985) ont montré qu'un anticorps monoclonal anti-*Toxocara* reconnaît un antigène de filaire. Contrairement à ces observations, d'autres auteurs n'ont détecté aucune réaction croisée avec des sérums de malades souffrant d'ascaridose, de trichinellose et d'échinococcoses (Yang et Kennedy, 1979; Carlier *et al.*, 1982; Yang, 1982).

Les informations sont donc contradictoires mais elles portent sur des observations trop peu nombreuses pour en tirer des conclusions générales.

Les larves de *T. canis* en culture produisent des molécules antigéniquement proches des antigènes A et B des érythrocytes humains (Smith *et al.*, 1983). Ces molécules pourraient créer de fausses réactions, d'autant plus que les antigènes A et B sont reconnus par des anticorps monoclonaux anti-*Toxocara* (Smith *et al.*, 1984). Pourtant, une absorption des sérums toxocara-positifs sur des antigènes A et B ne fait apparaître aucune baisse des titres spécifiques (Glickmann et Schantz, 1985). Ainsi, les éventuelles réactions croisées dues aux isohémagglutinines ne semblent pas interférer dans le test ELISA utilisant les ES.

Sur 119 personnes séropositives en toxocarose, 72% montraient des signes cliniques évoquant une LMO et 20% une LMV (Schantz et Stehr-Green, 1988). La sensibilité de l'ELISA est plus élevée lors d'une LMV (Schantz *et al.*, 1979; Clemett et Tuft, 1983). Mais la détection des LMO pourrait être améliorée en testant directement l'humeur vitrée, les taux d'IgG y étant plus élevés que dans le sérum (Bigland *et al.*, 1979; Glickmann *et al.*, 1979b). Bien que les atteintes oculaires résultent en général d'une infection moins massive, les taux d'anticorps ne permettent pas de différencier les deux manifestations.

- ELISA IgE-spécifiques.

Le sérum d'un babouin infecté expérimentalement par des larves de *T. canis* produit une réponse PCA positive (Passive Cutaneous Anaphylaxis) (Hogarth-Scott *et al.*, 1969). Chez des patients parasités, des IgE-spécifiques anti-*Toxocara* ont été détectées par RAST (Radio Allergo-Sorbent Test) et par ELISA ES (Genchi *et al.*, 1983; Carlier *et al.*, 1982; Brochier *et al.*, 1984; Genchi *et al.*, 1986; Oliver *et al.*, 1986; Magnaval, 1987).

Des IgE-spécifiques ont été décelées dans l'humeur aqueuse de patients atteints de LMO (Genchi *et al.*, 1988). Mais l'analyse de ce liquide, qui constituerait un diagnostic de prédilection pour la LMO, est peu praticable.

Genchi *et al.* (1983) ont observé une séroprévalence à IgE-spécifiques de 4,2% dans une population saine, de 16,4% chez des personnes vivant dans des pays tropicaux et de 15% chez des enfants mentalement retardés qui sont plus enclins à porter des objets à la bouche. Des IgE-spécifiques ont été détectées chez 45% de personnes asthmatiques (Desowitz *et al.*, 1981).

- Western-blotting (WB).

L'utilisation du WB pour le diagnostic de la toxocarose nécessite une bonne connaissance de l'antigène utilisé. Les ES sont essentiellement cuticulaires (Bowman *et al.*, 1987b). Le turnover complet de ces molécules à la surface des larves est très rapide, de l'ordre de 3 heures à 37°C (Maizels *et al.*, 1984). La biosynthèse des ES débute par les fractions de haut PM, celles de bas PM n'apparaissent qu'après quelques jours de culture (Akao *et al.*, 1983). Leur libération est stoppée par une baisse de la température (Smith *et al.*, 1981). L'excrétion d'antigènes ES a également été observée par les pores oraux et anaux des larves de *T. canis* (Hogarth-Scott, 1966).

Plusieurs auteurs ont caractérisé les antigènes ES de *T. canis* par SDS-PAGE (Sodium-Dodecyl Sulphate Poliacrylamide Gel Electrophoresis). De Savigny (1975) a ainsi détecté 3 bandes différentes. Sugane et Oshima (1983) en ont trouvé 4 et Akao *et al.* (1983) jusqu'à 7 à l'aide d'une coloration à l'argent.

L'analyse en WB permet de détecter davantage de bandes. Dans une étude comparative, Speiser et Gottstein (1984) ont observé respectivement 10 et 14 bandes. Pour Maizels *et al.* (1984), ainsi que pour Meghji et Maizels (1986), 7 bandes sont visibles dont 5 sont des antigènes majeurs de 32, 55, 70, 120 et 400 kDa (les bandes 32 et 120 kDa sont communes aux antigènes ES et aux extraits larvaires de *T. canis*). Enfin, jusqu'à 15 bandes différentes, réparties entre 14 et 200 kDa, ont été observées par des méthodes plus sensibles (Badley *et al.*, 1987; Aguila *et al.*, 1988; Boyce *et al.*, 1988).

Auteur	Année	Pays	Technique	Nombre	Séro-positifs	Remarques
Wiseman et Woodruff	1968	GB	Skin test	189	13%	Patients suspectés
Wiseman et Woodruff	1970	GB	Skin test	156	1%	Adultes
Idem	1970	Idem	Idem	64	2%	Enfants
Tettamanti	1971	Suisse	IF	112	Var.	5-10% selon provenance
Ruitenberg et al.	1976	Norvège	IF	253	2%	Enfants
Preissshofen et Lamina	1977	Allemagne	Microprécipitation	2684	9%	
Jacobs et al.	1977	GB	IF	34	6%	Travailleurs de chenil
Glickmann et Cypess	1977	USA	ELISA somatique	73	11%	Travailleurs de chenil
Cypess et al.	1977	USA	ELISA somatique	114	8%	Adultes
De Savigny et Cypess	1977	Canada	Hémagglutination	100	1%	Adultes
Idem	1977	Idem	Idem	50	2%	Enfants
Viens	1977	Canada	IF	940	5%	Population générale
Idem	1977	Idem	Idem	50	22%	Enfants asthmatiques
Idem	1977	Idem	Idem	63	20%	Adultes épileptiques
Idem	1977	Idem	Idem	43	16%	Enfants épileptiques
Idem	1977	Idem	Idem	102	41%	Enfants éosinophiliques
Woodruff et al.	1978	GB	ELISA ES	102	16%	Travailleurs de chenil
Girdwood	1978	GB	IF + PRIST	200	2%	Donneurs de sang
De Savigny et al.	1979	GB	ELISA ES	922	3%	Adultes (2 fois plus F que M.)
Yang et Kennedy	1979	Canada	ELISA ES	316	4%	Donneurs de sang
Schantz et al.	1979	USA	ELISA somatique	2606	30%	Patients suspectés
Glickmann et al.	1979a	USA	ELISA somatique	108	2%	Enfants
Idem	1979	Idem	Idem	84	7%	Enfants épileptiques
Bentley et Harris	1980	GB	IF	19	10%	Vétérinaires
Jones et al.	1980	USA	ELISA somatique	43	54%	Adultes en zone rurale
Berrocal	1980	Caraïbes	ELISA ES	671	Var.	0 - 10% selon âge
Yampolskaya et Alekseeva	1980	URSS	ELISA ES	73	18%	Enfants
Idem	1980	Idem	Idem	28	14%	Adultes
Stürchler et Peter	1981	Suisse	ELISA somatique	134	4%	Enfants
Desowitz et al.	1981	Idem	Microprécipitation	80	1%	Asthmatiques
Idem	1981	Idem	Idem	96	0%	Non asthmatiques
Josephs et al.	1981	GB	ELISA ES	133	14%	Enfants
Glickmann et Schantz	1981	USA	ELISA ES	8457	3%	Adultes
Brook et al.	1981	USA	ELISA somatique	1400	20%	Enfants
Woodruff et al.	1981a	Sudan	ELISA ES	250	2%	Khartoum
Idem	1981a	Idem	Idem	712	7%	Juba
Glickmann et al.	1981	USA	ELISA somatique	100	9%	Enfants
Matsumura et Endo	1982	Japon	ELISA ES	83	3%	Enfants
Idem	1982	Idem	Idem	530	4%	Femmes
Yang et al.	1982	Canada	ELISA ES	114	10%	Adultes hospitalisés
Idem	1982	Idem	Idem	113	9%	Vétérinaires
Magnaval et al.	1983	France	Immunoélectroph.	859	8%	
Knapen et al.	1983	Hollande	ELISA ES	112	7%	Enfants
Ree et al.	1984	GB	ELISA ES	570	11%	Enfants très positifs
Idem	1984	Idem	Idem	835	1%	Adultes très positifs
Worley et al.	1984	USA	ELISA somatique	333	23%	Enfants
Clemett et al.	1985	N. Zealand	ELISA ES	90	3%	Donneurs de sang citadins
Idem	1985	Idem	Idem	90	4%	Étudiants
Idem	1985	Idem	Idem	90	26%	*Hydatid control officers*

Tab. 4. Séroprévalence humaine de la toxocarose dans le monde (F = femmes; M = hommes) (suite à la page suivante).

La protéine de 400 kDa est très mal transférée sur la nitrocellulose et celle de 70 kDa n'est détectée qu'avec le sérum d'individus très fortement immunisés (Meghji et Maizels, 1986).

Magnaval (1989) a étudié l'application du WB au diagnostic de la toxocarose. Il a effectué une électrophorèse des antigènes ES de *T. canis* sur un gel SDS-PAGE 10%, suivi d'un transfert sur une membrane de nitrocellulose, d'une réaction immunologique avec des sérums humains et d'une révélation des anticorps fixés par coloration à l'or. Il a pu ainsi mettre en évidence deux groupes de protéines réactives: le premier est composé de quatre fractions de bas PM (24, 28, 30 et 35 kDa) et le second de 3 fractions de haut PM (132, 147 et 200 kDa). Le nombre de bandes est corrélé avec l'intensité de l'infection. La détection de la bande 24 kDa est considérée comme un bon critère de spécificité. L'apparition des seules bandes de hauts PM serait due à des réactions non-spécifiques.

Dans notre étude épidémiologique de l'infection humaine, nous avons utilisé un test ELISA IgG sur une population échantillonnée au hasard. La séroprévalence qui découle d'une telle enquête a déjà été déterminée dans plusieurs autres régions.

1.3.4. Séroprévalence.

La détermination de la séroprévalence est la seule méthode pour percevoir la présence et l'importance de la toxocarose dans la population humaine. Le **tableau 4** donne une liste des valeurs observées dans le monde. Les travaux ont tous été effectués à l'aide d'un test ELISA ES. Les pourcentages qui atteignent les extrêmes de 0 et 86% font douter des techniques utilisées (Desowitz *et al.*, 1981 et Thompson *et al.*, 1986 respectivement). La grande majorité des résultats se situent dans une fourchette comprise entre 1 et 8% pour les adultes et entre 2 et 23% pour les enfants. L'infection infantine semble en général plus répandue que celle des adultes (Wisemann *et al.*, 1970; De Savigny et Tizard, 1977; Ree *et al.*, 1984; Clemett *et al.*, 1985). En Europe et au Japon, par contre, la situation est inverse (Glickmann *et al.*, 1987; Magnaval, 1989).

Les personnes en contact professionnel avec les chiens (travailleurs de chenils, vétérinaires) sont plus souvent séropositifs que les autres (6%: Jacobs *et al.*, 1977; 11%: Glickmann et Cypess, 1977; 16%: Woodruff *et al.*, 1978; 10%: Bentley et Harris, 1980; 26%: Clemett *et al.*, 1985). Les épileptiques et les asthmatiques sont également très touchés (Glickmann *et al.*, 1979a; Arpino *et al.*, 1990; Desowitz *et al.*, 1981).

La séroprévalence est plus élevée chez les femmes (De Savigny *et al.*, 1979; Magnaval *et al.*, 1983). Dans une compilation de la littérature, Erhard et

Auteur	Année	Pays	Technique	Nombre	Positifs	Remarques
Glickmann et al.	1985	France	ELISA ES	255	8%	Donneurs de sang
Herrmann et al.	1985	USA	ELISA somatique	1409	4-7%	Enfants, selon la région
Nicholas et al.	1986	Australie	ELISA ES	660	7%	Donneurs de sang
Thompson et al.	1986	Caraïbes	ELISA somatique	82	86%	Enfants
Stürchler et al.	1986	Suisse	ELISA ES	765	5%	Donneurs de sang
Brunello et al.	1986	Italie	ELISA ES	605	6%	Donneurs de sang
Marmor et al.	1987	USA	ELISA ES	4652	5%	Enfants très positifs
Bundy et al.	1987	Jamaïque	ELISA ES	?	40-60%	Enfants entre 5-15 ans
Taylor et al.	1988	Irlande	ELISA ES	137	6%	8% des moins de 15 ans
Caucanas et al.	1988	France	ELISA ES	166	5%	Donneurs de sang
Embil et al.	1988	Canada	ELISA ES	49	14%	Enfants citadins
idem	1988	idem	idem	524	20%	Enfants campagnards
Portus et al.	1989	Espagne	ELISA ES	1018	4%	Donneurs de sang
Argino et al.	1990		ELISA ES	214	12%	Enfants
idem	1990	idem	idem	91	22%	Epileptiques

Tab. 4 (suite). Séroprévalence humaine de la toxocarose dans le monde.

Kernbaum (1979) analysent un grand nombre de cas. Selon eux, davantage d'enfants du sexe masculin sont séropositifs et cette tendance s'inverse chez les adultes. Les chiffres observés femmes-hommes sont de 30-70% chez les enfants (entre 1 à 2 ans) et de 55-45% chez les adultes.

Pour certains auteurs, la séroprévalence urbaine est moins élevée qu'en campagne (Jones *et al.*, 1980; Embil *et al.*, 1988; Clemett *et al.*, 1985). Matsumura et Endo (1982), au contraire, observent des valeurs de 3,9% en campagne et de 5,7% en ville. Glickmann *et al.* (1979c) précisent qu'aux Etats-Unis, la population la plus touchée par l'infection est composée de jeunes noirs issus d'un milieu social bas et vivant dans le sud qui est plus campagnard.

La toxocarose est une maladie cosmopolite, sa prévalence diffère fort d'un endroit à l'autre. Dans les régions tropicales, les hauts pourcentages de positifs peuvent s'expliquer par des réactions croisées avec d'autres helminthiases mais également, par les conditions climatiques plus favorables à la survie des oeufs dans les sols (température et humidité plus élevées). Le nombre élevé de chiens errants, grands disséminateurs d'oeufs, et les conditions précaires d'hygiène ont certainement aussi une importance.

Dans notre région, nous nous sommes intéressés à l'infection des chiens et des renards, hôtes définitifs de *T. canis*, mais aussi aux sols qui sont contaminés par les oeufs émis lors de la défécation de ces animaux. L'infection humaine en dépend.

1.4. *T. canis* chez l'hôte définitif.

Les canidés sont les hôtes définitifs de *T. canis*. Sous nos latitudes, trois groupes d'animaux peuvent abriter ce ver: les chiens domestiques, les renards et les loups. La conservation du cycle repose principalement sur les deux premiers. En effet, les loups sont presque absents de la scène européenne, seules quelques meutes subsistent dans les pays méditerranéens, en Scandinavie et dans les pays de l'Est (Delibes, 1990).

Les Ascaridés de carnivores sont très spécifiques et ne peuvent conclure leur cycle que chez les individus appartenant à la famille qu'ils parasitent habituellement. Un seul cas de toxocarose imaginaire a été observé chez l'homme (Bisseru *et al.*, 1966). Erhard et Kernbaum (1979) mentionnent la présence de l'adulte de *T. canis* chez des carnivores non canidés, tels que le chat, le guépard, le tigre ou encore le raton-laveur. Il s'agit en fait d'hôtes accidentels, tout à fait isolés, car le parasite ne parvient généralement pas à y effectuer la mue larvaire de stade II en stade III.

Auteur	Année	Méthode	Pays ou villes	Nombre de chiens	<i>T. canis</i>	<i>T. leonina</i>	Remarques
Brown et Stammers	1922	C	Londres	36	16%		
Lewis	1927	A	Grande Bretagne	59	16%		
Hinman et Baker	1936	C	Etats Unis	1315	2%		M: 1,6%, F:2,1%
Mann et Fratta	1952	A	Etats Unis	55	15%	5%	
Mann	1955	A	Etats Unis	100	9%	5%	
Ehrenford	1957	C	USA	1465	21%	4%	
Williams et Menning	1961	C	Amérique du Sud	366	38%		
Oldham	1965	A	Londres	250	6%	2%	
Styles	1967	C	Mexico	120	93%		Age > 6 mois
Woodruff	1970	C	Londres	1107	13%		
Wisemann et Woodruff	1971	C+A	Nigeria	85	37%		
Idem	1971	C+A	Uganda	116	13%		
Idem	1971	C+A	Kenya	60	8%		
Idem	1971	C+A	Tanzanie	50	28%		
Idem	1971	C+A	Londres	470	21%		
Idem	1971	C+A	Malte	52	29%		
Tettamanti et al.	1972	C	Bâle	55	16%		
Idem	1972	C	Berne	310	12%		
Idem	1972	C	Tanzanie	28	11%		
Soldati	1972	C	Italie	412	13%	1%	
Collins	1973	A	Nouvelle Zélande	51	33%		
Unruh et al.	1973	C+A	Canada	977	1-5%	1-10%	
Weston	1975	C	Grande Bretagne	718	11%	18%	
Woodruff	1975	C	Grande Bretagne	300	21%		
Holt	1976	C	Grande Bretagne	184	46%		
Ghadirian et al.	1976	C	Montréal	332	34%	11%	M:32%, F:36%
Jacobs et Pegg	1976	C	Grande Bretagne	574	7%	3%	M:9%, F:3%
Chieffi et Mueller	1976	C+A	Brésil	158	44%		
Loebenberg et Waltz	1977	C	Etats Unis	73	19%		<i>Toxocara spp.</i>
Turner et Pegg	1977	C	Londres	1000	7%	3%	
Viens	1977	C	Canada	332	34%	11%	
Davies et al.	1977	C	Grande Bretagne	137	4%		
Munro et Munro	1978	C	Iles Fidji	100	5%		
Marron et Schroeder	1978	C	Etats Unis	182	50%		
Palmeri et al.	1978	C+A	Etats Unis	100	49%	7%	
Schaffert et Strauch	1978	C	Allemagne	300	5%	2%	
Malloy et Embil	1978	C	Nouvelle Ecosse	474	27%	1%	
Yang et al.	1979	C	Canada	186	24%		
Dodge	1980	C	Nouvelle Zélande	145	3%		
Hoerchner et al.	1981	C	Allemagne	605	4%	1%	
Gualazzi et al.	1986	C	Nouvelle Ecosse	181	13%		
Thompson et al.	1986	C	Caribes	22	32%		
Knaus et Belke	1986	C	Allemagne	5002	20%		c:26%, v:15%

Tab. 5. Prévalence de *T. canis* chez les chiens dans les diverses régions du monde (C = coprologie; A = autopsie; M = mâles; F = femelles; c = campagne; v = ville).

Les chiens et les renards sont donc les hôtes définitifs habituels du nématode. L'homme a domestiqué les chiens et a ainsi assuré leur survie et leur multiplication au travers des âges. Les renards, animaux nocturnes et très discrets, sont difficilement dénombrables. Ils sont très prolifiques, mais la pression de chasse maintient probablement leur nombre à un niveau relativement bas. Malgré leur faible nombre, il ne faut cependant pas négliger leur rôle dans le cycle de *T. canis*. En effet, les chiens sont essentiellement présents dans les zones urbaines alors que les renards parcourent les campagnes et les forêts. Les deux espèces ne contaminent donc pas les mêmes endroits.

1.4.1. *T. canis* chez le chien.

La présence du chien dans tous les endroits fréquentés par l'homme explique la répartition cosmopolite de *T. canis*. Le nombre d'œufs dans un échantillon de terre est en relation non seulement avec le nombre de chiens fréquentant la zone de prélèvements, mais dépend également du taux d'infestation de ces derniers. De nombreux auteurs ont établi la prévalence de *T. canis* chez les hôtes canins dans les différentes régions du globe (**tableau 5**). Les méthodes utilisées dans ces travaux sont en général efficaces (dissection de l'animal ou recherches coprologiques) bien que de faibles infestations puissent échapper à l'observation coprologique. L'autopsie serait une méthode plus précise qui heureusement a moins souvent été utilisée. Les types d'échantillonnage diffèrent entre les auteurs. En effet, l'âge des chiens et le nombre d'analyses sont variables de cas en cas. Les résultats sont ainsi difficiles à comparer d'une étude à l'autre.

Les travaux résumés dans le **tableau 5** permettent toutefois plusieurs remarques:

- *T. canis* est bien présent dans tous les milieux, son aire de répartition est mondiale.
- Les chiens des zones rurales apparaissent plus infectés que ceux des villes (Knaus et Betke, 1986).
- Aucune différence de répartition entre l'hémisphère Nord et Sud ne peut être mise en évidence. En effet, dans les pays tropicaux, des prévalences comprises entre 5% (Munro et Munro, 1978) et 44% (Chieffi et Mueller, 1976) ont été observées alors qu'au Nord, elles vont de 2% (Hinman et Baker, 1936) à 49% (Palmieri *et al.*, 1978). La prévalence de 93% chez des chiens mexicains est sans doute liée à un échantillonnage très dirigé, tous les animaux avaient moins de six mois lors des observations (Styles, 1967).
- L'importance du sexe de l'hôte définitif sur l'infestation par *T. canis* semble controversée. Certains auteurs notent une prévalence plus importante chez les mâles (Hinman et Baker, 1936; Jacobs et Pegg, 1976). Ghadirian *et al.* (1976) parviennent à des conclusions opposées.

Auteurs	Année	Méthode	Pays	Nombre de renards	<i>T. canis</i> nombre positif	
Beresford-Jones	1961	A	Ecosse	300	138	46%
Loos-Frank et Zeyhle	1982	A	Allemagne	3138	982	32%
Gonzalez et Gonzalez	1986	A	Espagne	80	20	25%
Wiegand et Krug	1986	A	Allemagne	191	55	29%
Poglayen et al.	1988	A	Italie	310	108	35%
Ewald	1989	A	Allemagne	385	196	51%

Tab. 6. Prévalence de *T. canis* chez les renards européens (A = autopsie).

- Dans l'hémisphère Nord, la prévalence semble plus forte en hiver qu'en été (Ehrenford, 1957). Cette variation saisonnière n'a pas été constatée par les autres auteurs.

La prévalence de *T. canis* chez le chien dépend de l'âge de l'animal, les jeunes sujets étant beaucoup plus infectés que les adultes (Euzéby, 1963). Cette remarque est valable pour la majorité des Ascaridés et peut être expliquée par les transmissions trans-placentaire et trans-mammaire du parasite chez l'hôte définitif (Stoye, 1976a et b; Vossmann et Stoye, 1986).

Plusieurs auteurs pensent que *T. leonina* jouerait également un rôle dans la toxocarose humaine (Ehrenford, 1957; Euzéby, 1963; Hogarth-Scott, 1966). La prévalence de ce parasite chez le chien est nettement plus faible que celle de *T. canis* (tableau 5).

1.4.2. *T. canis* chez le renard.

Alors que le renard est le seul hôte définitif sauvage de *T. canis* dans nos régions, l'infection par ce parasite a été rarement signalée. En Europe, les prévalences très élevées sont comprises entre 25 et 51% (tableau 6). Aucune précision n'est disponible quant à l'âge des renards parasités; mais comme la grande majorité ne survit pas au-delà de deux ans (Weber com. pers.), on peut supposer que les animaux parasités étaient en général très jeunes. Rappelons que *T. canis* est essentiellement un parasite contracté lors de la jeunesse.

1.4.3. Transmissions mère-petits des larves de *T. canis*.

Burke et Roberson (1985) estiment qu'une chienne infectée par *T. canis* transmet 2,3% des larves à ses petits. La transmission trans-placentaire représente 98,5% de cette proportion et la transmission trans-lactaire 1,5%. Quand l'infection de la femelle a lieu à la fin de la gestation, la proportion de larves transmises par le lait est plus importante (Stoye, 1979). Ainsi, la majorité des chiots de quelques semaines sont infectés.

1.4.3.1. Transmission trans-placentaire.

La transmission trans-placentaire des larves de *T. canis* chez la chienne débute au 42ème jour de gestation mais au plus tôt, 14 jours après l'infection (Douglas et Baker, 1959). Ce mode d'infection est très fréquent chez les chiens; sur 673

Auteur	Année	Technique	Pays	Nombre échantillons	T. canis positif
Borg et Woodruff	1973	ZnSO4	Grande-Bretagne	800	24%
Pegg	1975	NaCl	Grande-Bretagne	5200	1%
Dubin et al.	1975	NaNO3	USA	136	10%
Genchi	1976	ZnSO4	Italie	150	83%
Ghadirian et al.	1976	NaCl	Canada	43	32%
Read et Thompson	1976	ZnSO4	Grande-Bretagne	14	13%
Cheffi et Mueller	1976	ZnSO4	Brésil	15	60%
Viens	1977	ZnSO4	Canada	43	33%
Khail et al.	1978	ZnSO4	Egypte hiver	1060	12%
Idem	1978	Idem	Egypte été	1060	5%
Zharova	1978	?	URSS	40	52%
Dada et Lindquist	1979a	ZnSO4	USA	232	22%
Dada et Lindquist	1979b	ZnSO4	USA	282	21%
Yang et al.	1979	?	Canada	29	10%
Laborde et al.	1980	NaCl	France	28	50%
Surgan et al.	1980	ZnSO4	USA	629	0%
Quinn et al.	1980	MgSO4	Grande-Bretagne	234	11%
Koehler et al.	1980	ZnSO4	Allemagne	320	10%
Bozdech	1981	KI	Tchécoslovaquie	975	12%
Woodruff et al.	1981a	ZnSO4	Afrique terrain sec	75	26%
Idem	1981a	Idem	Afrique terrain humide	25	32%
Woodruff et al.	1981b	ZnSO4	Irak	55	26%
Arther et al.	1981	Sucrose	USA boues d'épuration	?	présent
Hoerchner et al.	1981	ZnCl2	Allemagne	30	10%
Collins et Moore	1982	MgSO4	Australie	?	présent
Valkounova	1982	NaCl	Tchécoslovaquie	50	42%
Bouchet et Leger	1984	?	France	12	25%
Duewel	1984	NaCl	Allemagne	31	87%
Dunsmore et al.	1984	NaNO3	Australie	266	0%
Childs	1985	ZnSO4	USA	146	11%
Esterre et Agis	1985	NaCl	Guadeloupe	45	1%
Madwar et al.	1986	ZnSO4	Egypte rurale	500	13%
Idem	1986	Idem	Egypte ville	500	68%
Gualazzi et al.	1986	ZnSO4	Canada	567	23%
Thompson et al	1986	ZnSO4	Caralbes	41	20%
Knaus et al.	1987	NaCl	Tchécoslovaquie	18	22%
Snow et al.	1987	ZnSO4	Grande-Bretagne	503	66%
Beswick et Reilly.	1987	?	Grande-Bretagne	10	10%
Paul et al.	1988	ZnSO4	USA	135	16%

Tab. 7. Taux de contamination des sols dans le monde.

chiots nouveaux-nés, près de 100% présentaient de tels parasites adultes dans l'intestin (Barriga, 1991).

1.4.3.2. Transmission trans-lactaire.

La transmission des larves d'helminthes par le lait a été observée chez les micromammifères depuis plusieurs années déjà (Baer, 1972). Ce phénomène est intéressant car il permet au parasite une dispersion efficace sans passage par le milieu extérieur. Stone et Smith (1973) ont dressé une liste d'hôtes et de nématodes chez qui une telle transmission a été observée. Deux parasites du chien, *Ancylostoma caninum* et *T. canis*, *T. cati* chez le chat et *N. vitulorum* chez la vache en sont des exemples.

Stoye (1976 a et b) puis Voosmann et Stoye (1986) ont étudié la transmission lactaire de *T. canis* chez la chienne. Ils ont montré la présence de L II dans le lait et ont observé un passage important lorsque la femelle est infectée à la mise bas. L'excrétion du parasite dans le lait débute quatre jours après parturition et est maximale durant la seconde semaine de vie des chiots. Elle peut atteindre jusqu'à 200 larves par jour.

1.5. T. canis dans les sols.

L'isolement des oeufs à partir du sol est difficile: ces derniers sont très petits (60 à 90 μm) et ont tendance à adhérer aux particules de terre. Différentes méthodes de flottaison avec des solutions salines de composition différente ont été décrites (Spindler, 1929; Maplestone et Mukerji, 1936; Cavenes et Jensen, 1955; Woodruff et Shah, 1976; Dada, 1979; Quinn *et al.*, 1980; Kazacos, 1983).

La géophagie et les contacts fréquents avec de la terre souillée sont considérés comme les principaux modes de contamination des humains par les oeufs d'Ascaridés. La toxocarose n'échappe pas à cette règle. La quantité d'oeufs dans l'environnement qui est en relation avec le nombre de canidés infectés, détermine sans doute le potentiel infectieux des sols. Les oeufs de *T. canis* sont présents dans une grande variété de milieux (tableau 7). Leur absence n'a été signalée que dans deux endroits, le premier aux USA et le second en Australie (Surgan *et al.*, 1980; Dunsmore *et al.*, 1984). Les taux de contamination varient de 1% en Grande-Bretagne à 87% en Allemagne (Pegg, 1975; Duedel, 1984).

Seuls la sécheresse ou le froid excessifs ne permettent pas la survie des oeufs (Euzeby, 1963; Khalil *et al.*, 1978; Woodruff *et al.*, 1981a). La contamination des sols est moindre en hiver qu'en été et, en terrain sec plutôt qu'humide. Madwar *et al.* (1986) mettent en évidence une différence marquée entre la ville et la

campagne, les autres auteurs se bornent à confirmer la présence des oeufs de *Toxocara sp.* dans les sols sans chercher particulièrement à comparer les différents milieux.

Arther *et al.* (1981) ont étonnamment trouvé des oeufs infectieux de *T. canis* dans les boues d'épuration, bien qu'ils soient très sensibles aux conditions régnant généralement dans ce milieu (manque d'oxygène et température élevée).

1.6. *T. canis* chez l'hôte paraténique.

Les hôtes paraténiques (herbivores ou carnivores) jouent un rôle très important dans le cycle des Ascaridés de carnivores. Les oeufs de ces parasites sont en général dispersés dans le sol et la végétation et sont ingérés par ces animaux lors d'un comportement naturel de nutrition. L'infection du carnivore (hôte définitif) par prédation d'un animal infecté permet l'aboutissement du cycle.

Il a été démontré que les canidés s'infectent en ingérant un hôte paraténique lui-même infecté de larves de *T. canis* (Euzeby, 1963; Warren, 1969; Prokopic et Figalova, 1982; Prociw et Brindley, 1986). Le rôle réel des hôtes paraténiques dans le cycle de ce parasite reste tout de même difficile à estimer car nous manquons d'informations sur l'infection des animaux sauvages.

Le grand nombre de chiens infectés, l'énorme quantité d'oeufs produits par chaque ver femelle et la dispersion de ces oeufs dans tous les milieux, laissent supposer la présence de larves dans toute une gamme d'hôtes. Ce parasite a en effet été retrouvé dans les tissus d'animaux aussi divers que les blattes, vers de terre ainsi que dans une grande diversité de vertébrés (Sprenst, 1958). Galvin (1964) a réussi l'infection de poulets et de pigeons. Pegg (1971) a transmis le parasite d'une mouche infectée à un chien sain. Par ailleurs, la transmission des larves "remonte" les chaînes alimentaires. Ainsi, l'infection d'un canidé peut découler, par prédatons successives, de l'infection d'un insecte (Euzeby, 1963).

De nombreux auteurs ont réalisé des infections artificielles de souris de laboratoire (Smith et Beaver, 1953; Oshima, 1961a; Olson, 1962; Kayes et Oaks, 1976; Prokopic et Klabanova, 1980; Parson *et al.*, 1986). Le foie et le cerveau des animaux sont les plus touchés par les L II. En cas de réinfection, l'animal acquiert une protection partielle (Nicholas *et al.*, 1984; Bowmann *et al.*, 1987a).

Chez l'homme, en plus de l'infection reconnue par les oeufs du nématode, la possibilité d'une infection par consommation de viande contaminée a été suspectée (Beaver, 1962; Nagakura *et al.*, 1989). Cette hypothèse n'a pas été réellement démontrée. La recherche de larves dans la viande est laborieuse et aléatoire car les méthodes habituellement utilisées ne sont pas suffisamment sensibles.

La transmission trans-placentaire a également été observée chez l'hôte paraténique. Des larves de *T. canis* infectent les tissus de sourceaux dont la mère avait été infectée pendant la gestation (Webster, 1958). D'autres ont également été détectées dans l'utérus et le placenta de souris au 9ème jour d'une infestation puis au 11ème jour, elles infectaient le fœtus (Lee *et al.*, 1976). Ces observations sont critiquées par Oshima (1961b) qui, dans les mêmes conditions, ne retrouve aucun parasite chez les petits. Par contre, ce dernier a observé une action de la gestation, et de la lactation sur les routes de migration des larves de *T. canis* qui gagnent de préférence le fœtus et les mamelles.

La transmission trans-lactaire de larves de nématodes est moins connue chez l'hôte paraténique car peu de chercheurs ont abordé ce problème. Seul Salzer (1916) a détecté des larves de *T. spiralis* dans le lait d'une femme infectée.

L'étude des hôtes paraténiques est encore partielle, bien qu'indispensable à la compréhension du cycle du parasite. Notre travail contribue à mieux comprendre ce chaînon du cycle de *T. canis*.

1.7. La toxocarose humaine en Suisse.

Peu de travaux ont été effectués en Suisse sur la toxocarose. En 1971, Tettamanti a démontré la présence de *T. canis* chez des chiens autochtones. Il a ensuite effectué une recherche d'anticorps spécifiques par immunofluorescence, chez 47 malades présentant une hyperéosinophilie inexplicée: 5 se sont révélés très positifs. Il en a conclu que la toxocarose est bien présente dans notre pays et que la rareté des diagnostics provient certainement d'une ignorance de la part des médecins.

En 1981, Stürchler et Peter ont effectué une recherche d'anticorps chez 134 enfants d'un petit village du Jura (Bure). Des taux élevés d'anticorps anti-*T. canis* ont été détectés chez 3,7% d'entre eux. Tönz *et al.* (1983) n'ont trouvé aucun séropositif parmi 70 enfants de la ville de Bâle. Par contre, 4 (5,9%) l'étaient sur 68 enfants de l'Entlebuch. Speiser et Gottstein (1984) ont signalé la présence d'anticorps spécifiques chez des personnes provenant de différentes régions de Suisse, notamment chez 13 donneurs de sang du Jura bernois. Enfin, Stürchler *et al.* (1986) ont montré que 6,5% donneurs de sang du Jura, 3% à Zürich et 5% à Bâle étaient séropositifs sur un total de 765 personnes.

2. BUTS DU TRAVAIL.

Dans notre introduction, nous avons montré que la toxocarose humaine est une maladie présente dans notre pays mais qu'elle reste relativement mal connue.

Notre but principal est donc d'améliorer les connaissances de l'épidémiologie de cette maladie dans une partie du territoire suisse, la région jurassienne (comprenant les cantons du Jura et de Neuchâtel ainsi que les districts de Courtelary et de Moutier dans le Jura bernois).

Notre travail a consisté à étudier le cycle de *T. canis* en s'intéressant aux sources de l'infection des hôtes définitifs et paraténiques, l'homme en particulier. Nous avons ainsi déterminé:

- 1) la séroprévalence de la toxocarose dans la population humaine en différenciant les enfants des adultes, les citadins des campagnards.
- 2) le point de vue des médecins et leurs connaissances sur la maladie.
- 3) la prévalence de *T. canis* chez les canidés (chiens et renards, hôtes définitifs).
- 4) les taux de contamination des sols par les oeufs de *T. canis*.
- 5) la présence des larves de *T. canis* chez les hôtes paraténiques sauvages (campagnols) et domestiques (bovins).
- 6) l'infection des hôtes paraténiques par voie trans-lactaire.

Par l'étude de ces différents aspects du cycle de *T. canis*, nous avons cherché à comprendre le fonctionnement du foyer jurassien. Nous avons tenté de préciser les mécanismes conduisant à des infections humaines.

Dans une discussion générale de nos résultats, nous avons également mieux défini les moyens de contrôle de la toxocarose.

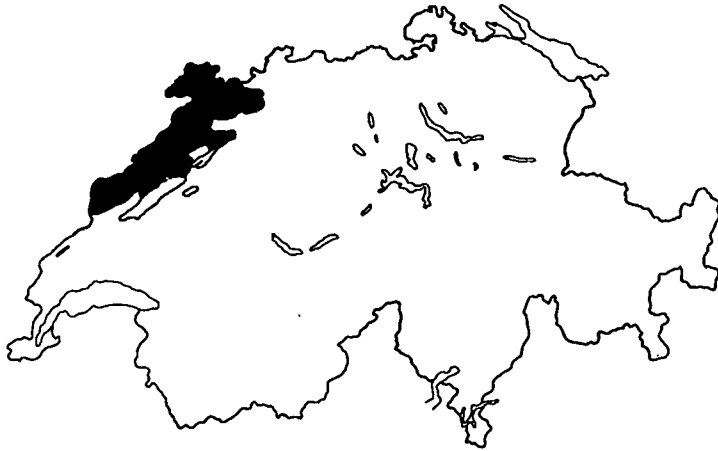


Fig. 4. Localisation de la région jurassienne étudiée en Suisse.

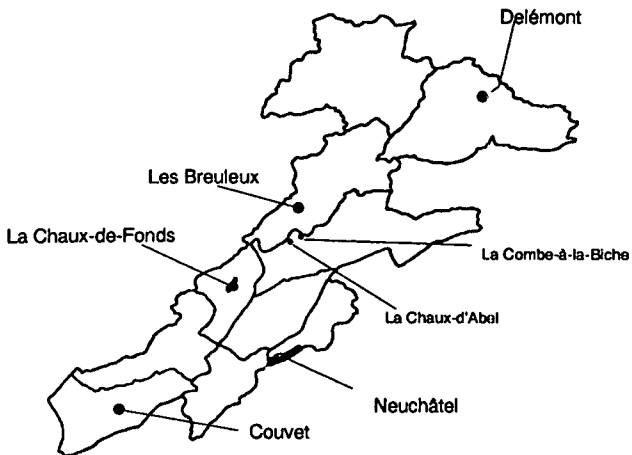


Fig. 5. Endroits de prélèvement dans la région jurassienne.

3. MATERIEL ET METHODES.

3.1. Terrain d'étude.

Nous avons choisi de concentrer notre recherche épidémiologique sur la région jurassienne: celle-ci regroupe le canton du Jura, le canton de Neuchâtel, les districts de Courtelary et de Moutier dans le jura bernois (**figure 4**). La région est montagneuse (Jura plissé), elle comporte des zones de basse altitude (Neuchâtel, environ 430 m et Porrentruy, environ 420 m) et des anticlinaux dont certains sommets dépassent 1300 mètres. La population concernée avoisine 200'000 habitants, dont une majorité (environ 110'000) est concentrée dans quelques villes (Neuchâtel, La Chaux-de-Fonds, Le Locle, Delémont, Porrentruy, Saint-Imier).

La séroprévalence humaine de la toxocarose a été déterminée sur un échantillon de cette population.

Nous avons étudié l'infection chez les chiens et la contamination des sols dans quatre localités représentatives de la région (**figure 5**):

- Neuchâtel (coordonnées 561.000/204.000, 36'000 habitants environ) est accolée à un lac et entourée à l'est et à l'ouest par d'autres agglomérations. Le climat général est relativement doux et l'altitude basse (430 m).
- La Chaux-de-Fonds (coord. 553.000/217.000, 37'000 hab. environ), est située à une altitude d'environ 1'000 mètres. L'enneigement hivernal est plus long qu'en plaine et le climat général plus rude.
- Couvet (coord. 539.000/197.000, 3'000 hab. env.), est un village à vocation industrielle, situé à une altitude de 730 mètres. La densité des habitations est plus faible qu'en ville.
- Les Breuleux (coord. 567.000/269.000, 1'000 hab. env.), petit village plus agricole, est situé dans les Franches-Montagnes à une altitude de 1'000 mètres. Les industries y sont rares et les fermes y sont nombreuses.

L'étude de l'infection chez les animaux domestiques a été menée dans quelques fermes des Franches-Montagnes. Les animaux sauvages (campagnols) ont été capturés aux alentours d'une exploitation agricole située près des Breuleux (La Combe-à-la-Biche, coord. 564.600/224.800, altitude 1080 mètres). Les crottes de renard ont été récoltées dans la région de la Chaux-d'Abel, terrain d'étude du groupe d'éco-éthologie de l'Université de Neuchâtel (**figure 5**).

3.2. Echantillonnage.

3.2.1. Des chiens.

A La Chaux-de-Fonds, Couvet et Les Breuleux, les animaux analysés ont été choisis par le biais des listes communales des propriétaires de chiens. Comme il n'était pas possible de tous les tester, nous avons effectué une sélection selon le critère de l'âge des animaux. Dans la mesure du possible, seuls les plus jeunes ont été retenus (moins de 2 ans) car ils représentent la population la plus touchée par l'infection (Euzeby, 1963). Nous avons demandé à chaque propriétaire de prélever un échantillon des selles de leur animal (de la taille d'une noisette) et de nous l'envoyer.

A Neuchâtel, l'échantillonnage s'est déroulé de façon différente. Nous avons contacté les membres d'une société cynologique et les clients d'un vétérinaire afin de solliciter leur collaboration.

Les propriétaires des chiens ont été informés des résultats des analyses. Chaque analyse de selles était complétée par le questionnaire présenté dans l'**annexe I**. Les questions portaient sur les caractéristiques de l'animal, la fréquence des vermifugations et les habitudes de promenade.

3.2.2. Des renards.

Dans la région de la Chaux-d'Abel, 58 crottes de renards ont été récoltées au hasard sur une surface d'environ 10 Km². Les échantillons ont été conservés dans de l'alcool 70%.

3.2.3. Des hommes.

Des prélèvements de sang ont été réalisés dans la région jurassienne. La population adulte a été échantillonnée au travers des donneurs de sang du Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds; la population infantine par les services de pédiatrie des hôpitaux.

- Centre de Transfusion Sanguine.

Le Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds récolte les sangs dans une région qui correspond à notre terrain d'étude, à l'exception de la ville de Neuchâtel. Une grande proportion des dons effectués pendant la période de juin 1988 à mars 1989 nous a été envoyée (6100 échantillons). Un second lot de 653 échantillons de sang nous est parvenu dans des conditions identiques durant la période novembre-décembre 1989. Une partie de ces nouveaux prélèvements provenaient, à une année d'intervalle, des mêmes donneurs. Le sang natif est décollé du tube et centrifugé (10 min à

3'000 t/min). Vingt μ l de chaque sérum sont déposés dans une microplaque non adsorbante (Greiner No. 656161). Cette dernière est congelée à -20°C après recouvrement de Scotch Sealing Tape (Dynatech N° M12A). Ce mode de stockage permet la reprise rapide de ces sérums à l'aide d'une multipipette et offre aussi la possibilité d'effectuer des dilutions directement dans des microplaques.

Les échantillons de sang sont numérotés. Seules des indications sur le sexe, l'âge, le lieu d'habitation, la date de prélèvement, la profession et le groupe sanguin du donneur nous sont communiquées. Toutes les données sont ainsi restées anonymes.

- Pédiatries.

Durant la période s'étalant de juillet 1988 à juin 1989, des échantillons de sang d'enfants hospitalisés dans les services de pédiatrie de l'hôpital Portalès à Neuchâtel, de l'hôpital communal de La Chaux-de-Fonds et de l'hôpital régional de Delémont nous ont été envoyés. Chaque prélèvement était caractérisé par le sexe, l'âge, le lieu d'habitation et la date d'entrée à l'hôpital de l'enfant; il est aussi resté anonyme.

3.2.4. Des sols.

- Prélèvements de terre à La Chaux-de-Fonds.

La ville comprend peu d'endroits herbeux. Elle est toutefois entourée de zones campagnardes où les habitants peuvent promener leurs chiens. Les hivers rigoureux, ainsi que la moyenne de température annuelle relativement basse, créent un climat défavorable à la survie des oeufs de *T. canis* dans le sol (Khalil *et al.*, 1978). Soixante-six échantillons de sol ont été prélevés. La localisation exacte de chacun est présentée dans l'**annexe II A**. Afin de mieux cerner les risques d'infection chez les enfants, notre choix s'est porté sur des milieux particuliers: pourtour des écoles et bacs à sable.

- Prélèvements de terre à Neuchâtel.

La situation géographique de cette cité limite les possibilités de promenades des propriétaires de chiens. Les aires de jeux sont peu nombreuses. Les hivers étant peu rigoureux, le climat général est plus propice à la survie des oeufs de *T. canis* dans les sols. Cent deux prélèvements de sol ont été effectués dans les mêmes conditions qu'à La Chaux-de-Fonds. La localisation exacte de chacun est présentée dans l'**annexe II B**. Par manque de zones herbeuses, le centre-ville est peu prospecté, c'est le bord du lac qui a retenu

tout particulièrement notre attention. En effet, il s'agit là d'un lieu de promenade important et très fréquenté, notamment par les baigneurs en été.

- Prélèvements de terre à Couvet.

Les zones herbeuses et les aires de jeux sont beaucoup plus nombreuses qu'en ville. Dans ce village, de nombreuses villas sont entourées d'un jardin. La campagne étant très proche, les propriétaires de chiens sortent facilement du village avec leur animal. La localisation des 30 prélèvements de sol effectués est présentée dans l'**annexe II C**.

- Prélèvements de terre aux Breuleux.

Trente échantillons de sol ont été prélevés dans les endroits de passage des promeneurs et autour des bancs publics. Leur localisation est présentée dans l'**annexe II D**. La densité des habitations est très faible et les clôtures autour des maisons sont rares. Les chiens sont libres d'aller où bon leur semble et ont ainsi de très grandes surfaces à disposition.

- Prélèvements de terre aux alentours d'une ferme.

Les prélèvements de sol ont été effectués autour d'une ferme au lieu-dit "La Combe-à-la-Biche". Cinq zones ont été déterminées d'après leur éloignement par rapport à l'habitation (zone 1: 0-20 m, 2: 20-30 m, 3: 30-40 m, 4: 40-50 m, 5: 50-60 m). Dans chacune, 5 à 10 échantillons ont été prélevés (**annexe II E**).

Une niche est située à l'ouest de la ferme. Deux jeunes chiens y sont généralement attachés, avec un accès aux alentours immédiats de la maison. Ils peuvent aussi s'en éloigner lorsqu'ils sont libres.

En vue de déterminer le taux de contamination du sol en plein champ, un dernier groupe de 20 prélèvements a été effectué à une distance d'environ 300 mètres de la ferme (non indiqué sur le plan).

3.2.5. Des micromammifères sauvages.

Les piégeages de campagnols (*Arvicola terrestris*) ont été réalisés autour de la ferme au lieu-dit "la Combe-à-la-Biche". Les captures ont été effectuées selon la technique décrite par Saucy (1988), à l'aide de pièges en aluminium de type Sherman qui, posés sous terre perpendiculairement aux galeries des campagnols, se referment sur l'animal quand ce dernier les visite.

La disposition des pièges est effectuée selon un transect long d'environ 150 mètres de part et d'autre de l'habitation (voir **annexe II F**). Vingt-six trappes sont posées le matin et relevées 2 à 3 fois par jour, ceci pendant 3 jours. Cette pratique permet la capture d'un grand nombre de campagnols (Saucy, 1988). Les animaux ont été tués à l'éther et disséqués. Les foies ont été récupérés pour la recherche de larves de *T. canis*. Nous avons également prélevé des échantillons de sang par ponction cardiaque. Après coagulation et centrifugation (10 min à 3000 t/min), les sérums ont été déposés dans des Eppendorf de 200 µl et congelés à -20°C.

3.2.6. Des bovins.

Cent cinquante-quatre bovins ont été choisis au hasard dans toute la région des Franches-Montagnes. Pour chaque animal, un vétérinaire a effectué un prélèvement de sang à la veine jugulaire et a récupéré une noisette de bouse. Après coagulation et centrifugation du sang (10 min à 3'000 t/min), le sérum a été prélevé et stocké au congélateur (-20°C). Les données concernant l'âge, le sexe de l'animal et la fréquence d'administration de vermifuges ont été notées.

3.3. Tests sérologiques.

3.3.1. Des humains.

3.3.1.1. ELISA IgG.

Le sérodiagnostic de la toxocarose a été effectué à l'aide d'un ELISA IgG utilisant l'antigène ES de *T. canis*. La méthode de production de cet antigène, ainsi que la mise au point du test, sont décrits dans l'**annexe III**. Les résultats sont exprimés en unités propres à notre test. La limite de positivité est fixée à 80 unités avec une zone douteuse entre 50 et 79 unités.

Tous les sérums provenant du Centre de Transfusion Sanguine et des services de pédiatrie ont été testés par cette technique.

3.3.1.2. ELISA IgE-totaux.

Le dosage des IgE-totaux a été effectué à l'aide d'un ELISA sandwich IgE dont la mise au point est décrite dans l'**annexe IV**. Les résultats sont exprimés en unités

internationales (UI). Tous les sérums provenant du deuxième lot du Centre de Transfusion Sanguine ont été testés par cette technique (653 échantillons).

3.3.1.3. ELISA IgE-spécifiques.

Le dosage des IgE-spécifiques a été effectué à l'aide d'un ELISA double sandwich IgE. La mise au point de ce test est décrite dans l'**annexe V**. La limite de positivité a été fixée arbitrairement à 50 (Indice de Zahner). Tous les sérums provenant du deuxième lot du Centre de Transfusion Sanguine ont également été testés par cette technique.

3.3.1.4. Western-blotting (WB).

Les sérums ont été testés en WB par le personnel du Laboratoire Central de Parasitologie-Mycologie des Hôpitaux de Toulouse qui utilise cette méthode en routine. Le test consiste en un SDS-PAGE 10% des antigènes ES de *T. canis*, suivi d'un électro-transfert sur une membrane de nitrocellulose, d'une incubation des sérums, et finalement d'une révélation des IgG par adjonction d'un anticorps secondaire marqué à l'or (Magnaval, 1989).

Nous avons effectué une sélection sur les sérums fournis par le Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds. Ont été choisis: les sérums positifs en ELISA IgG (≥ 50 unités du deuxième lot), ceux qui étaient positifs en ELISA IgE-spécifiques et enfin, les sérums des donneurs séropositifs lors de la première prise de sang (1988) et négatifs lors de la seconde (1989). Septante sérums au total ont ainsi été analysés.

3.3.4. Des souris de laboratoire.

La détermination des taux d'anticorps circulants des souris blanches infectées expérimentalement a été effectuée à l'aide d'un ELISA IgG. Les résultats sont donnés directement en absorbance (DO). La méthode est décrite dans l'**annexe VI**.

3.3.5. Des micromammifères sauvages.

Les sérums des campagnols ont été traités en ELISA IgG selon la même méthode que celle décrite pour les souris blanches. Un témoin positif, composé de sérums de souris blanches avec une DO élevée a été déposé sur chaque microplaque. De façon à éviter les variations journalières, tous les sérums de campagnols ont été traités le même jour sur une même microplaque. Les résultats sont indiqués en absorbance (DO).

3.3.6. Des bovins.

Les sérums des bovins ont aussi été traités en ELISA IgG selon la même méthode. L'anticorps secondaire est composé d'anti-IgG de bovins produits par une chèvre et couplés à une phosphatase alcaline (KPL N° 05-12-02). Le témoin positif est constitué du mélange des sérums de deux vaches infectées expérimentalement (voir 3.7.2.). Les résultats sont donnés directement en absorbance (DO).

3.4. Eosinophilie.

La formule sanguine des donneurs de sang du deuxième lot (voir 3.2.3.) a été déterminée sur un frottis coloré au Giemsa. Les échantillons de sang pour la préparation de sérum ont servi à la confection de ces frottis. Ils nous sont parvenus dans un délai de un à trois jours après prélèvement. Comme les tubes ne contenaient pas d'anticoagulant, les frottis étaient de mauvaise qualité mais cependant, toujours utilisables.

Une petite goutte de sang provenant du caillot a été déposée et tirée sur une lame porte-objet. Les lames ont été fixées à l'alcool 95° et colorées pendant 1 heure dans 6 ml de Giemsa (Merck N° 9204) mélangés à 94 ml de tampon phosphate pH 7,2 (2,5 g KH_2PO_4 ; 8,6 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 5 l H_2O). Elles ont ensuite été rincées à l'eau du robinet. Cent leucocytes ont été observés au microscope à immersion (400X). Le nombre d'éosinophiles observés indique directement l'éosinophilie en pourcents.

3.5. Enquêtes.

3.5.1. Habitudes alimentaires et comportementales des donneurs de sang.

Nous avons cherché à préciser les conditions épidémiologiques responsables d'une infection à *T. canis* grâce à un questionnaire (annexe VII) soumis à 162 personnes (121 ont été contactées par lettre et 41 par téléphone). Il s'agissait de 54 donneurs séropositifs (≥ 50 unités), appariés individuellement avec 2 séronégatifs de même sexe, de même âge (même année de naissance) et de même lieu de provenance.

3.5.2. Connaissances des médecins sur la toxocarose.

Un échantillon des praticiens en activité dans la région jurassienne a été choisi arbitrairement. Il est composé de 137 généralistes, 60 spécialistes en médecine interne, 21 pédiatres, 16 ophtalmologues, 7 dermatologues et 53 médecins d'autres spécialisations.

Deux cent nonante-quatre médecins au total ont ainsi reçu un questionnaire (**annexe VIII**). Il s'agissait surtout d'évaluer leurs connaissances de la toxocarose et le nombre de cas cliniques diagnostiqués en une année.

3.6. Recherche des oeufs de *T. canis*.

3.6.1. Dans les selles.

La technique utilisée habituellement pour rechercher des oeufs de nématodes dans les selles est une concentration par flottation au saccharose. Dans notre cas, nous avons préféré la concentration et coloration au MIF (Merthiolate, Iode, Formol: méthode de Blagg, Schloegel, Mansour et Khalaf décrite par Bailenger, 1982). Cette méthode présente l'avantage de permettre la conservation des selles pendant plusieurs semaines avant l'observation.

Au moment du prélèvement, les selles sont mélangées avec 4,7 ml de MF (250 ml d'eau distillée, 200 ml de teinture de merthiolate, 25 ml de formol et 5 ml de glycérine). Au laboratoire, 300 μ l de Lugol (5 g d'Iode, 10 g d'Iodure de Potassium et 100 ml d'eau distillée) sont ajoutés avec une nouvelle dose de 4,7 ml de MF. Le matériel est mélangé et passé au travers d'un tamis grossier pour retenir les grosses particules. Le liquide est repris dans un tube à centrifuger et comblé avec de l'éther. Le tout est secoué vigoureusement puis centrifugé 1 min à 1700 t/min. Le surnageant est jeté et le culot observé au microscope (10X) entre lame et lamelle.

Les selles de chiens et de bovins ont été traitées dans les conditions définies ci-dessus. Les crottes de renards étaient conservées dans de l'alcool 70% avant de subir un traitement identique.

3.6.2. Dans le sol.

Les échantillons de sol ont été traités par flottation au sulphate de magnésium selon la méthode décrite par Quinn *et al.* (1980). La description détaillée est reportée dans l'**annexe IX**.

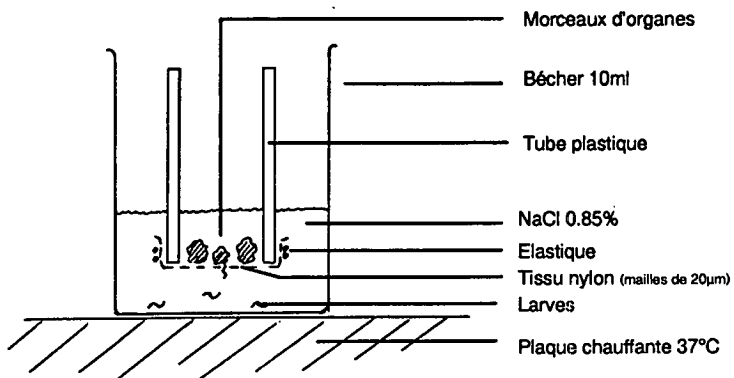


Fig. 6. Appareil de type Baermann utilisé pour isoler les larves de *T. canis* à partir d'organes infectés.

3.7. Infection artificielle et recherche des parasites.

3.7.1. Souris de laboratoire.

- Infection des souris pour la sérologie et la recherche des larves dans les organes:

Quatre souris blanches femelles (Balb/c) ont été infectées par intubation stomacale de 500 oeufs infectieux de *T. canis*, 4 par injection sous-cutanée de 500 oeufs également, et enfin 4 autres par injection sous-cutanée de 500 larves vivantes. Des oeufs et des larves ont été produits selon la méthode décrite dans l'**annexe III** puis ont été mis en suspension dans 0,1 ml d'eau distillée stérile. Pour chaque individu, une première prise de sang rétro-orbitale a été effectuée avant infection, puis tous les 7 jours pendant 8 semaines. Les prélèvements sanguins (entre 100 et 200 μ l) ont été déposés dans des tubes Eppendorf de 200 μ l. Après coagulation, ils ont été centrifugés pendant 10 min à 3'000 t/min. Les sérums ont ensuite été récupérés et stockés à -20°C.

A la fin des expériences, les souris ont été tuées et dépecées. Les animaux sans la peau ont été découpés en petits morceaux qui ont été déposés dans un appareil de type Baermann modifié (**figure 6**). Ce dernier a été plongé dans une solution NaCl 0,85% à 37°C pendant 48 heures selon la méthode décrite par Procriv (1989). Le fond de l'appareil Baermann est garni d'un tissu nylon avec des mailles de 20 μ m (NY-20-HD, Züricher Beutelfabrik, Rüslikon, Suisse). Les larves, libérées par autodigestion des tissus, franchissent les mailles du nylon et nagent dans la solution saline.

Pour séparer les vers des autres particules, le matériel récolté dans le bécher est lavé à l'eau distillée par centrifugation pendant 10 min à 4'000 t/min. Il est ensuite déposé délicatement dans un tube à essai sur une solution de saccharose 1,5 M, puis centrifugé pendant 10 min à 4'000 t/min. Le matériel n'ayant pas pénétré dans la solution de saccharose est récupéré, redilué dans de l'eau distillée et centrifugé à nouveau. Le culot restant est observé au microscope entre lame et lamelle à un grossissement de 4 fois.

- Infection des souris pour tester la transmission trans-lactaire:

Cinq souris blanches femelles (Balb/c), allaitant entre 6 et 10 souriceaux, ont été infectées par injection sous-cutanée de larves de *T. canis*. Les larves ont été produites comme décrit dans l'**annexe III**, lavées plusieurs fois à l'eau distillée stérile et mises en suspension dans une solution saline stérile de

SOURIS	Infection Nb. larves	JOUR																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
A	2000		s1		s2		s3		s4		s5		s6		s7		s8		s9		s10
B	2000			s1		s2		s3		s4		s5		s6		s7		s8			
C	2000		s1		s2		s3		s4		s5		s6		s7						
D	2000			s1		s2		s3		s4		s5		s6		s7		s8			
E	2000	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r	r
F	200								s1		s2		s3								
G	200								s1		s2		s3								

Tab. 8. Déroulement de l'expérience de transmission trans-lactaire de *T. canis* chez la souris (A à G = portée de souris; s1-s10 = souriceau sacrifié; r = portée de réserve dont le sacrifice n'a pas été planifié et qui ont servi à remplacer les souriceaux de la portée D morts en cours d'expérience).

NaCl 0,85%. La quantité de larves a été estimée par prélèvement de 10 μ l de liquide et par comptage au microscope. Une injection comprenait 2'000 larves vivantes dans 200 μ l de solution saline.

Un autre groupe de 2 souris blanches, ayant chacune 3 petits, a été traité selon le même protocole, mais avec une injection de 200 larves seulement.

Le déroulement de l'expérience est décrit dans le **tableau 8**. Deux jours après injection, les deux premiers souriceaux ont été sacrifiés (femelles A et C) puis tous les 2 jours, 2 nouveaux petits ont été tués. Les portées B et D subissent le même sort, les premiers sacrifices débutent au troisième jour de l'infection. A la fin de l'expérience, les femelles ont également été tuées. Pour les souris F et G (200 larves), les petits ont été tués aux jours 8, 10 et 13 et les mères à la fin de l'expérience.

Après la mort des animaux, le foie et l'estomac ont été prélevés et découpés. Les morceaux ont été déposés dans l'appareil de type Baermann décrit plus haut. En fin d'expérience, nous avons également prélevé le foie des femelles et recherché les larves de *T. canis*.

3.7.2. Bovins.

- Infection des bovins:

Deux vaches ont été infectées artificiellement avec des larves vivantes de *T. canis*. Le premier animal (A), a reçu une injection sous-cutanée de 30'000 larves, le deuxième (B), une injection de 80'000 larves. Deux prises de sang ont été effectuées, la première avant infection et la seconde en fin d'expérience; soit après 17 jours pour A et 25 jours pour B. La totalité du lait produit par les deux animaux pendant cette période a été récupérée. La vache A, un vieil animal, ne produisait que 7 litres de lait par jour. Par contre, la vache B, primipare, en produisait 20 litres. Le lait a été transporté au laboratoire et entreposé en chambre froide (4°C) avant son traitement, ceci pendant 3 jours au maximum (les larves de *T. canis* survivent à cette température).

- Recherche des larves dans le lait:

La recherche des larves (très petites et probablement peu nombreuses) directement dans de grandes quantités de liquide pose problème. Pour le lait de la vache A, une concentration a été effectuée par centrifugations successives, alors que le lait de la vache B a été écrémé avant la centrifugation. Les larves présentes dans les culots ont ensuite été concentrées par centrifugation sur couche de saccharose, puis observées au microscope (4x). Les deux méthodes sont décrites dans l'**annexe X**.

3.7.3. Micromammifères sauvages.

Dans le cas des micromammifères sauvages, seul le foie des animaux a été analysé car, d'une part, la texture du tissu est plus pratique à traiter que l'animal *in toto* et, d'autre part, une majorité de larves paraît retenue dans cet organe (Akao, 1985; Parson et Grieve, 1990).

Les foies de campagnols ont été traités selon la méthode d'Izzat et Olson (1970). Ils sont hachés pendant quelques secondes dans un mixer (Servall Omni-Mixer AC-DC NY) puis plongés dans une solution saline de pepsine-HCl (7,5 g de pepsine Merk N°7197; 10 ml HCl 37%; 8,5g NaCl; 1 l eau distillée). Après une incubation de 24 heures à 37°C, les échantillons sont filtrés à travers plusieurs couches de gaze, et lavés 2 fois par centrifugation (10 min à 4'000 t/min) à l'eau distillée. Le culot est redilué dans quelques ml d'eau et observé à la loupe pour rechercher les larves.

Nous avons utilisé cette technique car la méthode de digestion au NaCl 0,85% (voir ci-dessus), bien que plus efficace, n'était pas encore fonctionnelle dans notre laboratoire au moment de cette étude.

3.8. Tests statistiques.

Les méthodes statistiques (chi-deux et test de fréquences doubles) ont été essentiellement réalisées pour les comparaisons de moyennes et de proportions.

Log(Unités)	Unités	Nombre d'analyses	Fréquence Relative
1.8 - 1.9	6	6	0.1%
2.0 - 2.1	7 - 8	85	1.4%
2.2 - 2.3	9 - 10	340	5.6%
2.4 - 2.5	11 - 12	555	9.1%
2.6 - 2.7	13 - 15	1367	22.4%
2.8 - 2.9	16 - 19	1393	22.8%
3.0 - 3.1	20 - 24	878	14.4%
3.2 - 3.3	25 - 29	432	7.1%
3.4 - 3.5	30 - 36	280	4.6%
3.6 - 3.7	37 - 44	121	2.0%
3.8 - 3.9	45 - 49	85	1.4%
4.0 - 4.1	50 - 67	85	1.4%
4.2 - 4.3	68 - 81	89	1.5%
4.4 - 4.5	82 - 99	70	1.0%
4.6 - 4.7	100 - 121	84	1.4%
4.8 - 4.9	122 - 148	74	1.2%
5.0 - 5.1	149 - 181	58	1.0%
5.2 - 5.3	182 - 221	28	0.5%
5.4 - 5.5	222 - 270	14	0.2%
5.6 - 5.7	271 - 330	11	0.2%
5.8 - 5.9	331 - 403	12	0.2%
6.0 - 6.1	404 - 492	12	0.2%
6.2 - 6.3	493 - 601	6	0%
6.4 - 6.5	602 - 735	3	0%
6.6 - 6.7	736 - 897	2	0%
6.8 - 6.9	898 - 1096	2	0%
7.0 - 7.1	1097 - 1339	1	0%
7.2 - 7.3	1340 - 1635	0	0%
7.4 - 7.5	1636 - 1998	1	0%

Tab. 9. Anticorps IgG anti-*T. canis* chez les adultes donneurs de sang (6100 analyses).

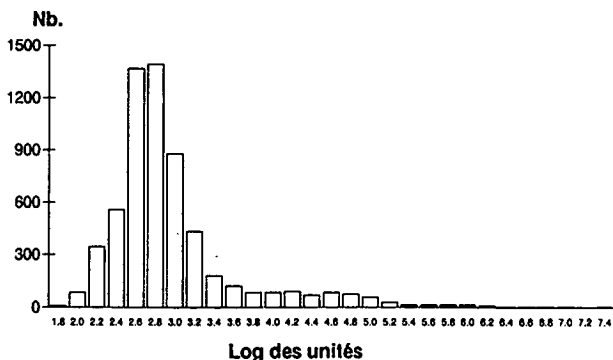


Fig. 7. Histogramme des fréquences des anticorps des sérums de donneurs.

Log(Unités)	Unités	Nombre d'analyses	Fréquence Relative
1.8 - 1.9	6	0	0
2.0 - 2.1	7 - 8	15	3%
2.2 - 2.3	9 - 10	43	8.6%
2.4 - 2.5	11 - 12	62	12.4%
2.6 - 2.7	13 - 15	160	31.9%
2.8 - 2.9	16 - 19	112	22.4%
3.0 - 3.1	20 - 24	45	8.9%
3.2 - 3.3	25 - 29	23	4.6%
3.4 - 3.5	30 - 36	8	1.6%
3.6 - 3.7	37 - 44	9	1.8%
3.8 - 3.9	45 - 49	8	1.6%
4.0 - 4.1	50 - 67	4	0.8%
4.2 - 4.3	68 - 81	4	0.8%
4.4 - 4.5	82 - 99	1	0.2%
4.6 - 4.7	100 - 121	2	0.4%
4.8 - 4.9	122 - 148	2	0.4%
5.0 - 5.1	149 - 181	1	0.2%
5.2 - 5.3	182 - 221	0	0%
5.4 - 5.5	222 - 270	1	0.2%
5.6 - 5.7	271 - 330	1	0%
5.8 - 5.9	331 - 403	0	0%

Tab. 10. Anticorps IgG anti-*T. canis* chez les enfants des pédiatries (501 analyses).

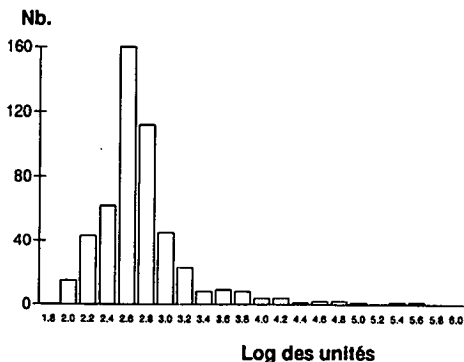


Fig. 8. Histogramme des fréquences des anticorps des sérums d'enfants.

4. RESULTATS ET DISCUSSIONS.

4.1. *T. canis* chez l'homme.

4.1.1. Anticorps IgG anti-*T. canis* dans la population jurassienne.

4.1.1.1. Population adulte (Sérums du Centre de Transfusion Sanguine).

Durant l'année 1989, nous avons reçu 6100 sérums du Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds. Ces échantillons provenaient d'une population de donneurs de sang adultes ayant entre 18 et 77 ans et ont été testés en ELISA IgG spécifiques anti-*T. canis*. Les résultats sont exprimés en unités (u).

Le **tableau 9** indique les données brutes et la **figure 7** les illustre par un histogramme des fréquences. Afin de normaliser la courbe (la distribution des anticorps dans une population suit théoriquement une loi normale), nous avons disposé les unités en abscisse selon une échelle logarithmique. La moyenne est de 3,0649 (21,4 u), l'écart-type de 0,6491.

La courbe, de par sa forme, semble suivre une loi normale, bien qu'un peu étalée vers la droite. Il s'agit probablement d'une superposition de deux courbes. Une première, avec un pic à 16 u (log = 2,8), représente sans doute les personnes n'ayant pas eu de contact avec *T. canis* (vrais négatifs). La seconde, moins élevée avec un maximum à 100 u (log = 4,6), contient les personnes ayant probablement eu un contact avec le parasite. La différence numérique entre le groupe des personnes probablement infectées et celui des négatifs est très importante, aussi pouvons-nous considérer l'ensemble des sérums globalement et fixer les seuils de positivité mathématiquement.

Selon les seuils de positivité déterminés dans l'**annexe III**, 9,9% des adultes ont des taux d'anticorps anti-*T. canis* supérieurs ou égaux à 50 u et 6,4% ont des taux supérieurs ou égaux à 80 u.

4.1.1.2. Population infantine (Sérums des pédiatries).

Le service de pédiatrie de l'hôpital Pourtalès à Neuchâtel, des hôpitaux de La Chaux-de-Fonds et de Delémont nous ont fait parvenir respectivement 224, 89 et 188 échantillons de sang. Au total, 501 sérums ont été testés de juillet 1988 à juin 1989 dans les mêmes conditions que celles utilisées pour tester les sangs du Centre de Transfusion Sanguine.

Le **tableau 10** donne les résultats ELISA bruts et leur fréquence, la **figure 8** les représente graphiquement sous forme logarithmique. La moyenne des résultats

	Nombre	Limite à 50 unités		Limite à 80 unités	
		Nb.	%	Nb.	%
Total	6100	601	9.90%	392	6.50%
Hommes	3520	356	10.10%	227	6.40%
Femmes	1997	194	9.70%	131	6.60%
Inconnu	583	51	8.70%	34	5.80%

Tab. 11. Séroprévalences selon le sexe des adultes.

	Nombre	Limite à 50 unités	
		Nb.	%
Total	501	18	3.60%
Garçons	281	14	4.90%
Fillles	188	2	1.10%
Inconnu	32	2	6.20%

Tab. 12. Séroprévalences selon le sexe des enfants. La différence entre garçons et filles est significative ($p = 0,042$).

Classes d'âge	Nombre Sérums	Limite à 50 unités		Limite à 80 unités	
		Nb.	%	Nb.	%
16 - 20	134	13	9.70%	8	6.00%
21 - 25	394	30	7.60%	27	6.90%
26 - 30	494	43	8.70%	26	5.30%
31 - 35	685	50	7.30%	30	4.40%
36 - 40	768	63	8.20%	39	5.10%
41 - 45	883	102	11.60%	59	6.70%
46 - 50	651	77	11.80%	55	8.40%
51 - 55	543	54	9.90%	38	7.00%
56 - 60	444	56	12.60%	35	7.90%
61 - 65	300	37	12.30%	24	8.00%
66 - 70	141	15	10.60%	11	7.80%
71 - 75	52	6	11.50%	3	5.80%
76 -	29	4	13.80%	3	10.30%
Inconnu	582	51	8.70%	34	5.80%
Total	6100	601	9.90%	392	6.40%

Tab. 13. Séroprévalences selon l'âge des adultes.

Classes d'âge	Nombre Sérums	Limite à 50 unités	
		Nb.	%
0 - 1	28	0	0.00%
1 - 2	27	1	3.70%
2 - 3	20	0	0.00%
3 - 4	27	1	3.70%
4 - 5	44	1	2.30%
5 - 6	39	1	2.60%
6 - 7	52	2	3.80%
7 - 8	41	2	4.90%
8 - 9	37	1	2.70%
9 - 10	34	3	8.80%
10 - 11	30	1	3.30%
11 - 12	26	1	3.80%
12 - 13	24	0	0.00%
13 - 14	20	2	10.00%
14 - 15	16	1	6.30%
15 - 16	20	1	5.00%
16 - 17	5	0	0.00%
17 -	2	0	0.00%
Inconnu	9	0	0.00%
Total	501	18	3.60%

Tab. 15. Séroprévalences selon l'âge des enfants.

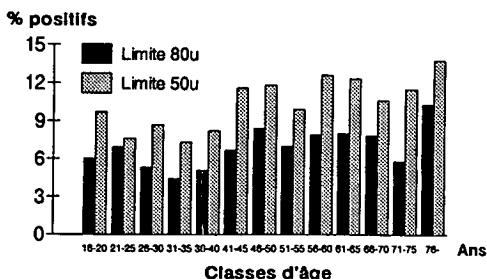


Fig. 9. Histogramme de fréquences selon l'âge des adultes séropositifs.

Groupe d'âge	Total	> 50u		> 80u	
		Nb.	%	Nb.	%
< 46 ans	3358	301	9.00%	189	5.60%
>= 46 ans	2160	249	11.50%	169	7.80%

Tab. 14. Séroprévalences selon l'âge des adultes différenciés en deux groupes avec une limite à 46 ans. La différence est significative ($p = 0,002$).

est de 2,8495 (17 u) et l'écart-type de 0,4628. Selon le seuil de positivité déterminé dans l'annexe III, 3,2% des enfants des pédiatries ont des taux d'anticorps anti-*T. canis* supérieurs ou égaux à 50u.

4.1.1.3. Données épidémiologiques.

- Séroprévalence en fonction du sexe:

Au seuil de 80u, 6,4% des hommes et 6,6% des femmes présentent des anticorps anti-*T. canis*; au seuil de 50u, 10,1% et 9,7% respectivement (**tableau 11**).

Aucune différence significative de séropositivité n'est ainsi constatée entre les sexes. Les autres auteurs signalent des résultats contradictoires; ainsi, pour De Savigny *et al.* (1979) la séroprévalence est plus élevée chez les mâles alors que pour Embil *et al.* (1988), c'est l'inverse qui est vrai. Seules les observations de Yang *et al.* (1982) concordent avec les nôtres.

Les résultats pour les enfants des pédiatries sont présentés dans le **tableau 12**. La différence entre garçons et filles est significative pour une limite du test ELISA à 50u (4,9% et 1,1% respectivement, $p = 0,042$). Ces résultats corroborent les observations de Erhard et Kernbaum (1979) qui constataient également un contact plus fréquent des garçons avec *T. canis*.

- Séroprévalence en fonction de l'âge:

Dans le **tableau 13**, les séroprévalences des donneurs de sang sont décrites selon des classes d'âge de 5 ans, la **figure 9** représente les pourcentages de positifs en fonction de ces classes. Les jeunes comptent un peu moins d'individus positifs que les plus âgés, mais une comparaison statistique classe par classe ne permet pas de mettre en évidence un groupe d'âge particulièrement touché.

Pourtant, la population des moins de 46 ans et celle des plus de 46 ans, montrent des prévalences différentes ($p = 0,002$; **tableau 14**). Les taux de séropositivité sont plus élevés chez les individus les plus âgés.

La même analyse a été effectuée pour les enfants, leur âge ne semble pas influencer la séroprévalence (**tableau 15**).

- Séroprévalence selon les groupes sanguins:

Smith *et al.* (1983) ont observé la présence de molécules antigéniquement proches des antigènes A et B des érythrocytes humains dans les ES de *T. canis*. Ils ont attiré l'attention des chercheurs sur les risques de fausses réactions que

Groupe Sanguin	Total	Négatifs		Positifs $\geq 50u$		Positifs $\geq 80u$	
		Nb.		Nb.		Nb.	
O	2312	2092	220	9,5%	152	6,6%	
A	2629	2357	272	10,3%	174	6,6%	
B	377	345	32	8,5%	18	4,8%	
AB	199	173	26	13,1%	14	7%	
Inconnu	583	532	51	8,7%	34	5,8%	
Total	6100	5499	601	9,9%	392	6,40%	

Tab. 16. Séroprévalences selon le groupe sanguin des donneurs de sang.

No	District	Nombre Total	Pos. limite 50u		Pos. limite 80u	
			nb		nb	
1	Ajoie	480	58	12,1%	42	8,7%
2	Delémont	603	60	10%	34	5,6%
3	Franches-Mtagnes	325	33	10,2%	23	7%
4	Courtelay	447	68	15,2%	46	10,2%
5	Chaux-de-Fonds	1896	131	6,9%	86	4,5%
6	Val-de-Ruz	357	46	12,3%	29	8,1%
7	Neuchâtel	31	1	3,2%	0	0%
8	Le Locle	792	80	10,1%	52	6,6%
9	Boudry	200	20	10%	14	7%
10	Val-de-Travers	335	50	14,9%	30	8,9%
	Inconnu	634	54	8,5%	36	5,7%
	Total	6100	601	9,8%	392	6,4%

Tab. 17. Séroprévalences selon la provenance des adultes.

Nombre d'habitants	Total	Pos. limite à 50 u.		Pos. limite à 80 u.	
		Nb.		Nb.	
Non déclaré	622	53	8,5%	35	5,6%
0 - 99	59	14	23,7%	9	15,6%
100 - 499	540	75	13,9%	52	9,6%
500 - 999	470	63	13,2%	41	8,7%
1000 - 1999	1255	155	12,4%	101	8%
2000 - 2999	141	15	10,6%	7	5%
3000 - 9999	697	73	10,4%	46	6,6%
10000 -	2305	152	6,6%	99	4,3%
Total	6100	601	9,9%	392	6,4%

Tab. 18. Séroprévalences des adultes selon la taille des localités.

No	District	Nombre Total	Pos. limite 50u		Pos. limite 80u	
			nb		nb	
2	Delémont	433	51	11,7%	27	6,2%
5	Chaux-de-Fonds	86	14	16,3%	9	10,5%
8	Le Locle	320	47	14,7%	31	9,7%
7	Neuchâtel	2	0	0%	0	0%

Tab. 19. Séroprévalences dans les districts à l'exception des villes de plus de 10'000 habitants.

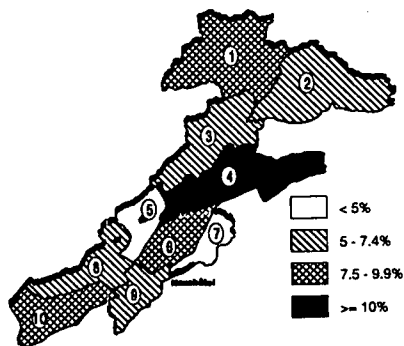


Fig. 10. Séroprévalences selon la provenance des adultes (limite à 80u).

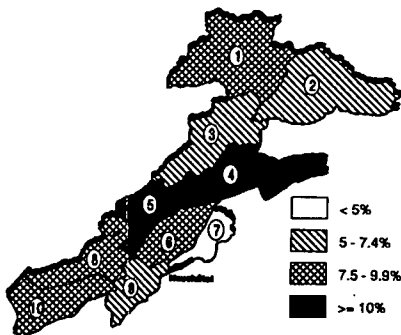


Fig. 11. Séroprévalences des adultes selon leur provenance à l'exception des villes de plus de 10'000 habitants.

pourraient provoquer la reconnaissance de ces molécules par les isohémagglutinines A et B humaines. A notre avis, l'existence de telles réactions croisées devrait entraîner une variation de séroprévalence entre les groupes sanguins (A, B, AB et O).

Or, aucune différence n'est observée dans la répartition des positifs selon les groupes sanguins (**tableau 16**). Le groupe des personnes AB (sans isohémagglutinines) présente même des taux de séropositivité légèrement plus élevés que les autres. Ainsi, dans notre test, l'appartenance à l'un ou l'autre de ces groupes ne paraît pas influencer les résultats.

- Séroprévalence selon la localité de provenance:

La division de la région jurassienne en ses 10 districts administratifs a servi de base à notre étude. Les prévalences de chaque district ont été définies en fonction du lieu de provenance des donneurs (**tableau 17** et **figure 10**). Certains districts ne sont que peu infectés (La Chaux-de-Fonds, Neuchâtel), les autres le sont plus fortement (Courtelary, Val-de-Travers, Val-de-Ruz, Ajoie, Franches-Montagnes, Delémont). L'existence de foyers géographiques limités pourrait expliquer cette divergence.

En classant les résultats selon la taille des localités de provenance des donneurs, nous observons qu'une nette diminution de la séroprévalence est liée à l'augmentation de l'importance des agglomérations (**tableau 18**). L'interprétation de ces résultats exige pourtant une certaine prudence car pour quelques classes, le nombre d'observations est faible.

Les séroprévalences dans les agglomérations de 0-9'999 habitants et celles de plus de 10'000 habitants sont différentes ($p = 0,001$). Cette remarque est valable autant en considérant la limite de 50u (11,4 et 6,6% respectivement) que celle de 80u (7,2 et 4,3%). De plus, les petites localités (0-999 habitants, 9,5% de positivité) se différencient des plus grandes (1'000-9'999 habitants, 5,8%) ($p = 0,0001$). Ainsi, la séroprévalence est beaucoup plus faible chez les adultes habitants des agglomérations de grande taille que dans les petits villages où l'on trouve des pourcentages très élevés de personnes séropositives.

En excluant les villes de plus de 10'000 habitants; soit Neuchâtel, La Chaux-de-Fonds, Delémont et Le Locle, nous avons établi un nouveau tableau et une nouvelle carte de séroprévalences chez les adultes (**tableau 19** et **figure 11**). Dans cette nouvelle répartition, les différences s'estompent. Les prévalences s'échelonnent entre 6,2% et 10,5%. Seul le district de Neuchâtel montre encore une séroprévalence proche de 0%, qui peut s'expliquer par le faible nombre de données accumulées (2 sérums seulement ont été analysés). Ainsi, au contraire de ce que l'on pouvait supposer préalablement, il n'existe pas de réels foyers géographiques pour la toxocarose, mais une importante différence de séroprévalence entre la ville et la campagne.

Nombre d'habitants	Pos. limite à 50 u.		
	Total	Nb.	
Non déclaré	33	0	0%
0 - 99	4	0	0%
100 - 499	47	1	2,1%
500 - 999	52	1	1,9%
1000 - 1999	78	4	5,1%
2000 - 2999	58	2	3,4%
3000 - 9999	113	5	4,4%
10000 -	116	5	4,3%
Total	501	18	3,4%

Tab. 20. Séroprévalences des enfants selon la grandeur des agglomérations.

Ménagère																	
Ménagère	*	Commerce, banques															
Commerce, banques	-	*	Etudiant														
Etudiant	-	-	*	Nature et forêt													
Nature et forêt	0.05	0.001	0.05	*	Médecine et santé												
Médecine et santé	-	-	-	0.01	*	Mécanique lourde											
Mécanique lourde	-	-	-	0.001	-	-	*	Constriction, bâtiment									
Construction, bâtiment	-	-	-	0.001	-	-	-	*	Fonction publique								
Fonction publique	-	-	-	0.001	-	-	-	-	*	Mécanique légère							
Mécanique légère	-	-	-	0.001	-	-	-	-	-	*	Hôtellerie, restauration						
Hôtellerie, restauration	-	-	-	-	-	-	-	-	0.05	*	Imprimerie						
Imprimerie	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	*	Nettoyage					
Nettoyage	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	Transport				
Transport	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	*	Enseignement			
Enseignement	-	-	-	0.001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	Divers		
Divers	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	Inconnu
Inconnu	-	-	-	0.001	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*
Séropositifs par classe	6	41	6	41	18	56	17	27	25	7	4	4	10	13	8	109	
Total par classe	73	717	84	222	254	1112	284	351	554	65	79	38	129	221	110	1806	
Séroprévalence par classe	8,2%	5,7%	7,1%	18,5%	7,1%	5%	6%	7,7%	4,5%	10,8%	5,1%	10,5%	7,8%	5,9%	4,3%	6%	

Tab. 21. Séroprévalences selon la profession (limite de positivité à 80u). Les classes de professions sont comparées deux à deux. Une différence significative est donnée par sa valeur, un "-" indique une différence non significative.

Tranche d'âge	Sérums Testés	Limite 50 unités		Limite 80 unités		Structure de la pop.	% relatif de la pop.	
		Nb. pos.		Nb. pos.			Lim. 50 u.	Lim. 80 u.
0 - 10	349	12	3.44%	12	3.44%	11,3%	0.389	0.389
11 - 20	277	19	6.85%	19	6.58%	13,7%	0.938	0.938
21 - 30	888	73	8.22%	53	5.97%	15,7%	1.291	0.937
31 - 40	1453	113	7.78%	69	4.75%	15,3%	1.19	0.727
41 - 50	1534	179	11.67%	114	7.43%	13,6%	1.587	1.01
51 - 60	987	110	11.14%	73	7.40%	11,3%	1.259	0.836
61 - 70	441	52	11.79%	35	7.94%	9,1%	1.073	0.726
71 -	81	10	12.35%	6	7.41%	10,1%	1.247	0.748
Total	6010	568	9.45%	381	6.34%	100%	8.97%	6.31%

Tab. 22. Séroprévalences dans la région jurassienne, ajustés à la structure de la population. Pour les personnes de moins de 20 ans, seule la limite de séropositivité de 50 unités est prise en compte.

Pour les enfants, en plus faible nombre et moins souvent séropositifs, une tendance inverse à celle des adultes est observée (**tableau 20**). En effet, bien que les différences ne soient pas statistiquement significatives, les taux de positifs sont en nombre légèrement plus élevés en ville qu'à la campagne.

- Séroprévalence selon la profession:

La population adulte a été divisée en 16 catégories d'activités professionnelles. Les séroprévalences ont été comparées deux à deux (**tableau 21**).

La catégorie "Nature et Forêt" montre une séroprévalence très élevée (18,5% présentent des taux d'IgG supérieurs ou égaux à 80u) et est significativement très différente des autres ($p= 0,001$). Elle regroupe les agriculteurs, les jardiniers, les fleuristes, les bûcherons, les palefreniers et autres professions proches de la terre. En considérant les agriculteurs seulement, 22,8% (37/162) montrent des anticorps anti-*T. canis* contre 6,7% (4/60) pour les autres professions de cette classe. Le taux de séropositivité dans la population totale est de 6,3%.

En fixant la limite de positivité à 50 u, c'est 36,4% des agriculteurs qui sont séropositifs contre 9,9% pour la population adulte totale. C'est donc dans cette profession que les contacts avec *T. canis* sont les plus fréquents.

4.1.1.4. Séroprévalence réelle.

L'échantillonnage que nous avons effectué dans la région jurassienne n'est pas exactement représentatif de la population. En effet, la moitié des donneurs de sang testés ont entre 30 et 50 ans alors que cette tranche d'âge représente moins de 28% de la population. Or, les taux d'anticorps varient en fonction de l'âge (voir 4.1.1.3.: séroprévalence en fonction de l'âge). Pour établir la séroprévalence réelle, nous devons corriger l'erreur due à cet échantillonnage arbitraire, en ajustant nos résultats à la pyramide des âges.

Dans chaque classe d'âge, nous avons multiplié la séroprévalence par le pourcentage réel de personnes que cette classe représente (**tableau 22**). La structure de la population (pyramide des âges) est tirée de l'Annuaire Statistique de la Suisse (1989) (données de 1985).

Les séroprévalences non corrigées sont de 6,34% pour une limite à 80 u et de 9,45% à 50 u. L'addition des pourcentages relatifs à chaque tranche d'âge permet de fixer les nouvelles valeurs à 6,31% (limite à 50u) et 8,97% (limite à 80u).

Les valeurs corrigées ne s'éloignent que faiblement de celles observées, nous n'avons donc pas faussé les résultats lors de notre échantillonnage.

La séroprévalence anti-*T. canis* est donc élevée dans la région jurassienne où les adultes semblent davantage infectés que les enfants. Les taux de séropositivité diffèrent selon le lieu de résidence des personnes; les séropositifs sont plus nombreux dans les campagnes que dans les villes. Enfin, la population paysanne semble particulièrement touchée par l'infection.

4.1.1.5. Deuxième lot du Centre de Transfusion.

Afin de déterminer l'incidence, le taux de disparition et la durée moyenne de la séropositivité, un deuxième lot de 653 sérums nous est parvenu du Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds durant l'année 1989. Deux cent septante d'entre eux provenaient de donneurs dont le sérum avait déjà été testé l'année précédente. Nous avons déterminé les titres IgG anti-*T. canis* pour les 653 personnes; 47 (7,2%) étaient douteux (entre 50 et 80u) et 35 (5,4%) positifs ($\geq 80u$). Ces résultats correspondent aux séroprévalences déterminées avec une population plus importante ($p > 0,3$ voir 4.1.1.4.).

Pour indiquer qu'il s'agit de données sérologiques et non pas cliniques, nous précéderons chaque nom du préfixe "séro".

- Séroincidence.

L'incidence d'une maladie correspond au taux d'apparition de nouveaux cas dans une région donnée en une année. Nous avons déterminé la séroincidence de la toxocarose dans la région jurassienne, qui est le taux d'apparition de nouveaux séropositifs en une année.

En fixant la limite du test ELISA à 50 u, une séroconversion a été observée dans 8 cas; la séroincidence est donc de 2,9% (8/270). Avec une limite à 80 u, 6 séroconversions peuvent être considérées (2,2%).

- Taux de sérodisparition.

Le taux de disparition d'une maladie est l'inverse de l'incidence. Il s'agit du pourcentage de malades d'une région qui ont guéri en une année. Dans notre cas, nous avons déterminé le taux de sérodisparition de la toxocarose dans la région jurassienne qui est le pourcentage de séropositifs devenus négatifs en une année.

IgE-totaux UI	Répartition des résultats Nb.	
0-100	495	73%
100-200	79	12%
200-300	36	5%
300-400	6	1%
400-500	9	2%
500-600	3	1%
600-700	6	1%
700-800	3	1%
800-900	2	1%
900-1000	2	1%
1000-	12	2%
Total	653	100%

Tab. 23. IgE-totaux chez les adultes de la région jurassienne (653 analyses).

		Valeurs		Convergence	
		IgG		IgG	
		< 80u	>= 80u	< 80u	>= 80u
IgE- totaux	< 300UI	578	32		42%
	>= 300UI	41	2	55%	3%

Tab. 24. Relation entre les résultats des ELISA IgG et IgE-totaux (653 analyses).

En fixant la limite de l'ELISA à 50 u, 10 sérums positifs en 1988 se sont négativés en 1989. Le taux de sérodisparition est donc de 3,7% (10/270). Avec une limite à 80 u, c'est 6 sérums qui se sont négativés (2,2%).

La sérodisparition n'est pas statistiquement différente de l'incidence. Si tel était le cas, nous observerions une nette augmentation ou une diminution de la séroprévalence avec l'âge. Dans le cas de la toxocarose, l'augmentation est très faible et ne peut être reliée à ce phénomène.

- Durée moyenne de la séropositivité.

La durée moyenne d'une maladie correspond au quotient prévalence sur incidence (Rumeau-Rouquette *et al.*, 1981). Nous avons calculé la durée moyenne de la séropositivité. Elle correspond au nombre d'années que des taux significatifs d'IgG anti-*T. canis* sont détectables chez une personne infectée.

En fixant la limite de positivité à 50 u, nous observons une durée moyenne de séropositivité de 2,8 ans alors qu'avec une limite à 80 u, elle est de 2,7 ans.

La toxocarose est une maladie à haute séroprévalence. Malgré une longue durée de séropositivité, la séroincidence reste élevée. Les infections ou les réinfections en une année sont par conséquent probablement nombreuses.

4.1.2. IgE-totaux et IgE-spécifiques anti-*T. canis*.

4.1.2.1. IgE-totaux.

Les IgE-totaux ont été dosés dans les 653 sérums du deuxième lot de donneurs de sang (tableau 23). Septante-trois pourcents des échantillons possèdent des taux d'IgE considérés comme normaux (entre 0 et 100 UI). Dix-sept pourcents présentent des taux de 100 à 300 UI (personnes dites atopiques) et 10% ont des taux supérieurs à 300 UI.

Les patients atteints d'une helminthiase ou d'une protozoose tissulaire montrent en général des taux d'IgE-totaux supérieurs à 300 UI (Roitt *et al.*, 1985). Aussi, pour la suite de cette étude, nous estimerons positif tout sérum dépassant cette limite.

Nous avons cherché à définir la réalité de la potentialisation des IgE par *T. canis* en évaluant, pour chaque échantillon, la relation entre les résultats IgE-totaux et IgG anti-*T. canis* (tableau 24). En écartant les résultats doublement négatifs (578), 3% des sérums (2/75) sont positifs dans les deux tests; 42% (32/75) sont uniquement positifs en ELISA IgG et 55% (41/75) en ELISA IgE seulement. Le

IgE-spécifiques Indice de Zahner	Répartition des résultats Nb.	
	0-50	619
50-100	18	3%
100-200	8	1%
200-300	4	1%
300-400	2	0,5%
400-500	0	0%
500-	2	0,5%
Total	653	100%

Tab. 25. IgE-spécifiques chez les adultes de la région jurassienne (653 analyses).

		Valeurs IgG		Convergence IgG	
		< 80u	>= 80u	< 80u	>= 80u
IgE- spécifiques	IZ < 50	603	16		32%
	IZ >= 50	15	19	30%	38%

Tab. 26. Relation entre les résultats des ELISA IgG et IgE-spécifiques (653 analyses; IZ = Indice de Zahner).

Eosinophilie %	Répartition des résultats Nb.	
	0- 4	337
5- 7	48	12%
8- 9	16	4%
10-11	6	1%
12-13	4	1%
14-15	2	1%
16-17	0	0%
18-19	1	1%
20-21	3	1%
Total	417	100%

Tab. 27. Eosinophilie chez les adultes de la région jurassienne (417 analyses).

		Valeurs IgG		Convergence IgG	
		< 80u	>= 80u	< 80u	>= 80u
Eosino- philie	< 5%	340	49		64%
	>= 5%	22	6	28%	8%

Tab. 28. Relation entre les résultats de l'ELISA IgG et l'éosinophilie (417 analyses).

taux de convergence entre les deux tests est de 3% seulement alors que le taux de divergence s'élève à 97%.

Nous n'observons aucune corrélation entre les taux d'IgE-totaux et la séropositivité en anticorps IgG. Ainsi, l'infection d'un individu par *T. canis* n'entraîne pas obligatoirement une potentialisation de la réponse IgE.

4.1.2.1. IgE-spécifiques.

Les IgE-spécifiques détectés avec l'antigène ES de *T. canis* ont été dosés chez les 653 adultes donateurs de sang du deuxième lot. Selon le seuil fixé à un Indice de Zahner de 50, 34 sérums sont positifs (6%) et 619 négatifs (**tableau 25**).

Nous avons contrôlé si la production d'IgG anti-*T. canis* était couplée à une production d'IgE-spécifiques en évaluant, pour chaque échantillon, la relation entre les résultats des deux tests (**tableau 26**). En écartant les résultats doublement négatifs (603), 38% des sérums (19/50) sont positifs dans les deux tests; 32% (16/50) uniquement en ELISA IgG et 30% (15/50) seulement en ELISA IgE-spécifiques. Le taux de convergence entre les deux tests est de 38%, alors que le taux de divergence s'élève à 62%.

Au contraire des IgE-totaux, une certaine convergence a été observée entre les résultats IgG et IgE-spécifiques. La production d'anticorps de classe IgG en réponse à une infection toxocarienne est, dans plus d'un tiers des cas, couplée à une production d'IgE-spécifiques.

4.1.3. Eosinophilie.

Une éosinophilie comprise entre 0 et 4% est considérée comme normale (Rick, 1977). L'éosinophilie a été déterminée pour 417 des 653 échantillons de sang (**tableau 27**). Nous observons que 19% (80/417) des échantillons montrent des taux supérieurs ou égaux à 5% et que la grande majorité 96% d'entre eux ne dépassent pas 10%. Pour la suite de cette étude, nous tiendrons compte des valeurs supérieures à 5%.

L'éosinophilie est donnée comme le signe cardinal de l'infection à *T. canis* (Erhard et Kernbaum, 1979). Nous avons donc comparé, pour chaque échantillon, le taux d'éosinophiles et la séoprévalence IgG (**tableau 28**). En écartant les 320 donateurs négatifs en ELISA IgG qui présentaient une éosinophilie normale; 8% (6/77) étaient positifs en IgG et montraient une éosinophilie de 5% ou plus; 64% (49/77) étaient positifs en IgG et avec une éosinophilie normale; 28% (22/77) montraient une éosinophilie de 5% au moins tout en étant négatifs en IgG. Le taux de convergence entre les deux tests est très faible (8%) et le taux de

		Valeurs		Convergence	
		IgG		IgG	
		< 80u	>= 80u	< 80u	>= 80u
WB	bande 24 -	2	6		8%
	bande 24 +	28	34	42%	50%

Tab. 29. Relation entre les résultats de l'ELISA IgG et le WB (70 analyses).

divergence est de 92%. Aucune corrélation n'est observable, l'infection par *T. canis* ne semble pas induire obligatoirement une élévation de l'éosinophilie.

4.1.4. Western-blotting (WB).

Les méthodes que nous avons utilisées jusqu'à présent pour détecter les anticorps anti-*T. canis* sont semi-quantitatives. Le WB, par contre, permet de "qualifier" la production d'anticorps par une visualisation des antigènes reconnus par les sérums.

Septante sérums séropositifs en IgG ou en IgE-spécifiques ont été testés en WB sur un antigène ES de *T. canis*. Des antigènes de 24, 28, 32, 35, 132, 147 et 200 kDa ont été détectés:

- les antigènes de 24 et 35 kDa ont été très fortement révélés par 46 sérums (66%), de façon moins marquée par 17 (24%) et n'ont pas été reconnus par 7 sérums (10%).
- les antigènes de 28 et 32 kDa ont été très fortement révélés par 43 sérums (61%), de façon moins marquée par 17 (24%) et n'ont pas été reconnus par 10 échantillons (14%). Les antigènes de 24 et 35 kDa étaient chaque fois détectés simultanément.
- les antigènes de 132 et 147 kDa ont été très fortement révélés par 41 sérums (59%), de façon moins marquée par 16 (23%) et n'ont pas été reconnus par 13 échantillons (19%).
- l'antigène de 200 kDa a été très fortement révélé par 41 sérums (59%), de façon moins marquée par 15 (21%) et n'a pas été reconnu par 14 échantillons (20%).

Selon Magnaval (1989), la détection de l'antigène de 24 kDa signe spécifiquement une infection à *T. canis*. Pour la suite du traitement de nos résultats, seuls les sérums réagissant sur cet antigène ont été considérés comme positifs en WB.

Le **tableau 29** compare les résultats du WB avec ceux de l'ELISA IgG. En écartant les résultats séronégatifs en IgG et négatifs en WB (2): 50% (34/68) des sérums sont positifs dans les deux tests; 8% (6/68) sont positifs en IgG et ne révèlent pas l'antigène 24 kDa en WB; 42% (28/68) sont négatifs en IgG et révèlent l'antigène 24 kDa. Le taux de convergence de 50% correspond parfaitement aux résultats de Magnaval (1989) qui aboutissent à une convergence de 51%.

		Valeurs		Convergence des positifs	
		Eosinophilie		Eosinophilie	
		< 5%	>= 5%	< 5%	>= 5%
IgE- spécifiques	IZ < 50	321	75		78%
	IZ >= 50	16	5	17%	5%
		IgE-totaux		IgE-totaux	
		< 300UI	>= 300UI	< 300UI	>= 300UI
IgE- spécifiques	IZ < 50	578	32		42%
	IZ >= 50	41	2	55%	3%
		Eosinophilie		Eosinophilie	
		< 5%	>= 5%	< 5%	>= 5%
IgE- totaux	< 300UI	310	71		67%
	>= 300UI	27	9	25%	8%
		WB		WB	
		bande 24 -	bande 24 +	bande 24 -	bande 24 +
Eosinophilie	< 5%	2	30		75%
	>= 5%	1	9	3%	22%
		WB		WB	
		bande 24 -	bande 24 +	bande 24 -	bande 24 +
IgE- spécifiques	IZ < 50	5	30		47%
	IZ >= 50	2	32	3%	50%
		WB		WB	
		bande 24 -	bande 24 +	bande 24 -	bande 24 +
IgE- totaux	< 300UI	5	48		75%
	>= 300UI	2	14	3%	22%

Tab. 30. Convergences des différents tests comparés deux à deux (IZ = Indice de Zahner).

Une grande proportion (42%) des divergences est observée pour des sérums négatifs en ELISA IgG qui détectent l'antigène 24 kDa en WB. En fait, la sensibilité du WB n'est pas nettement supérieure à l'ELISA car, sur les 28 sérums concernés, 10 ont des titres IgG entre 50 et 80 u. En abaissant le seuil de positivité du test IgG, les deux techniques donnent des résultats sensiblement identiques.

Ainsi, le WB n'apporterait, à notre avis, pas beaucoup d'informations supplémentaires à notre étude épidémiologique, c'est pourquoi nous ne l'avons pas systématiquement appliqué.

4.1.5. Traitement global des résultats sérologiques.

Jusqu'à présent, nous avons seulement mis en parallèle les résultats des différents tests avec ceux de l'ELISA IgG. Nous allons maintenant les comparer deux à deux (tableau 30):

- Eosinophilie / IgE-spécifiques:

Le taux de convergence entre ces deux tests est très faible (5%) et correspond à celui observé entre l'éosinophilie et les IgG (voir 4.1.3.).

- IgE-totaux / IgE-spécifiques:

Vingt-quatre pourcents des sérums sont positifs en IgE-spécifiques et négatifs en IgE-totaux, alors que seulement 3% sont positifs dans les deux tests. Ainsi, dans la majorité des cas, nous observons une production d'anticorps IgE-spécifiques qui n'est pas liée à une potentialisation de la réponse IgE-totaux.

- Eosinophilie / IgE-totaux:

Le taux de convergence entre éosinophilie et IgE-totaux est également bas (8%). Le rôle joué par la toxocarose dans l'élévation des titres IgE-totaux et de l'éosinophilie est donc faible, alors que chez les personnes atteintes d'une helminthiase tissulaire, il est généralement admis que ces valeurs augmentent. Les personnes atteintes d'autres helminthiases sont trop rares dans la population, aussi la convergence des résultats de l'éosinophilie et des IgE-totaux n'est pas influencée. Enfin, aucun de ces deux tests ne converge avec l'ELISA IgE anti-*T. canis*.

		Résultats IgG (limite à 80u)				Significativité
		négatif		positif		
		Nb		Nb		
Lieu de travail	ville	76	82%	14	64%	p = 0,118
	Campagne et forêt	17	18%	8	36%	
Possession ou contact avec des chiens	oui	39	42%	12	55%	p = 0,405
	non	54	58%	10	45%	
Fréquence de verminage des chiens	souvent, régulièrement	15	60%	3	43%	p = 0,706
	Jamais	10	40%	4	57%	
Possession d'un chat	oui	16	17%	6	27%	p = 0,436
	non	77	83%	16	17%	
Consommation de viande crue	souvent, quelques fois	17	18%	7	32%	p = 0,265
	jamais	76	82%	15	68%	
Type de cuisson de la viande	cuit	58	62%	10	45%	p = 0,226
	saignant	35	38%	12	55%	
Lieu d'achat de la viande consommée	gde surface, boucherie	74	90%	13	58%	p = 0,001
	ferme	9	10%	9	42%	
Consommation de lait	fréquent, régulier	65	70%	15	66%	p = 0,919
	rare	28	30%	7	33%	
Cuisson du lait	oui	38	41%	7	32%	p = 0,590
	non	55	59%	15	68%	
Provenance du lait consommé	grande surface, laiterie	88	95%	19	86%	p = 0,366
	ferme	5	5%	3	14%	
Achat du lait sous forme	pasteurisé	84	90%	18	82%	p = 0,448
	cru	9	10%	4	18%	
Consommation de salade	fréquente	80	86%	19	86%	p = 0,763
	rare	13	14%	3	14%	
Provenance de la salade	achetée	50	50%	12	55%	p = 0,864
	personnelle	43	46%	10	45%	

Tab. 31. Résultats du questionnaire sur les habitudes alimentaires et comportementales des donneurs de sang en fonction de la séropositivité.

- WB / autres tests:

La convergence des résultats du WB avec les IgE-spécifiques est bonne (50%). Elle correspond aux convergences de chacun de ces deux tests pris séparément et comparé à l'ELISA IgG. La comparaison du WB avec les IgE-totaux ou l'éosinophilie n'apporte aucune information, les convergences sont faibles.

4.1.6. Habitudes alimentaires et comportementales des donneurs de sang.

Cent vingt-et-une personnes de la région jurassienne ont été questionnées par lettre et 41 par téléphone, sur leurs habitudes alimentaires et comportementales. Dans cet échantillonnage, un individu sur trois était un donneur de sang séropositif en IgG (limite à 50u). Les deux autres étaient des donneurs séronégatifs dont l'âge, le sexe et le lieu de provenance étaient identiques. Le détail du questionnaire est présenté dans l'**annexe VII**.

Sur les 121 personnes contactées par lettre, 74 ont répondu (61%). Avec les 41 appels téléphoniques, nos investigations ont porté sur 115 individus.

Afin de déterminer les conditions épidémiologiques pouvant favoriser une séroconversion, les réponses au questionnaire ont été classées selon les résultats du test ELISA IgG anti-*T. canis* (**tableau 31**). Le seuil de 80u est considéré.

- la séropositivité n'est pas dépendante du lieu de travail.
- elle n'est pas influencée par la possession ou les contacts fréquents avec un ou plusieurs chiens.
- la vermifugation régulière ne protège pas particulièrement le propriétaire d'un chien contre le parasite.
- la possession d'un chat (donc la proximité d'une source d'oeufs de *T. cati*, espèce proche de *T. canis*) n'augmente par les taux d'anticorps anti-*Toxocara*.
- la consommation de viande crue ne comporte pas de risque d'infection.
- le degré de cuisson de la viande ne semble pas favoriser l'apparition d'anticorps. Il n'y a pas davantage de séropositifs chez les personnes qui se nourrissent de viande saignante que chez les autres.
- les séropositifs se fournissent en viande préférentiellement à la ferme, plutôt que dans les commerces ($p = 0,001$).

- la séroprévalence n'est influencée ni par la consommation fréquente de lait, ni par le type de cuisson du lait, ni par la provenance de ce lait.
- elle n'est pas non plus liée à la consommation fréquente de salade.

Un seul comportement semble lié à la séroconversion (seuil à 80u), il s'agit de l'achat de viande à la ferme. Avec prudence, si l'on accepte 50u comme seuil de spécificité, la consommation de viande crue ($p = 0,025$), l'habitude de manger de la viande saignante ($p = 0,081$) et l'achat de lait à la ferme ($p = 0,068$) pourraient aussi influencer la séroconversion (résultats non montrés). Le nombre limité de personnes questionnées explique sans doute le peu de significativité de ces dernières comparaisons.

Dans notre étude, 4 habitudes alimentaires des adultes (donneurs de sang) paraissent donc augmenter le contact (présence d'anticorps spécifiques) avec *T. canis*:

- la consommation fréquente de viande crue.
- la faible cuisson de la viande.
- l'approvisionnement en viande à la ferme.
- l'approvisionnement en lait à la ferme.

Ces habitudes sont vraisemblablement liées. En effet, le fait de manger régulièrement de la viande non cuite est probablement plus fréquent chez les personnes qui ont l'habitude manger leur steak saignant. D'autre part, les personnes qui achètent leur lait à la ferme s'y fournissent probablement également en viande. Rappelons que les paysans représentent la population la plus touchée par *T. canis*.

4.1.7. Discussion: *T. canis* chez l'homme.

L'étude épidémiologique de la toxocarose s'avère difficile car il n'existe pas de méthode simple permettant de confirmer ou d'exclure une infection par le parasite. Comme l'avait déjà souligné Schantz (1989), la sensibilité, la spécificité et les valeurs de prédiction des tests sérologiques ne peuvent pas être établies avec certitude.

Malgré ces inconvénients, nous avons choisi le test ELISA ES en IgG pour déterminer la séroprévalence de cette infection dans la région jurassienne. Cette méthode est performante dans le diagnostic de la toxocarose (De Savigny *et al.*, 1979; Speiser et Gottstein, 1984; Schantz, 1989). Elle a été utilisée avec succès dans des études épidémiologiques (De Savigny et Voller, 1980). L'expression des résultats en unités par l'emploi d'une courbe standard peut sembler laborieuse,

mais elle permet une bonne reproductibilité. Les valeurs ainsi exprimées correspondent à un dosage des anticorps spécifiques. Pour éviter de définir arbitrairement le seuil de positivité du test, nous avons eu recours à une méthode mathématique en utilisant un grand nombre de sérums de personnes théoriquement saines.

La spécificité, donnée en fonction du seuil mathématique, est de 97% à 80u. Confronté à des sérums de patients atteints de diverses protozooses et helminthiases, le test s'est avéré très spécifique, les réactions croisées étant presque inexistantes. Dans les quelques cas positifs, nous ne pouvons exclure des infections mixtes, avec une toxocarose non reconnue. De plus, avec réalisme, les affections susceptibles d'interférer dans le test (échinococcoses, filarioses, schistosomoses) sont peu fréquentes dans la population jurassienne.

Notre étude séroépidémiologique dans la région jurassienne a abouti à plusieurs résultats originaux:

La séroprévalence s'élève à 6,3% et même à 9% si l'on prend en compte les résultats douteux (compris entre 50 et 80 u). Les enfants (3,6%) sont beaucoup moins touchés que les adultes (9,9%) (limite à 50 u). Deux à 3% de nouveaux séropositifs apparaissent chaque année avec une durée moyenne de séropositivité de 3 ans environ. Ainsi, le nombre de personnes nouvellement en contact avec le parasite est élevé et la durée de l'infection relativement longue.

Contrairement aux observations de certains auteurs (De Savigny *et al.*, 1979; Erhard et Kernbaum, 1979; Magnaval *et al.*, 1983), les séroprévalences des adultes sont identiques dans les deux sexes. Les personnes testées dans notre étude sont en nombre suffisamment élevé pour permettre cette affirmation. Chez les enfants par contre, les garçons sont plus souvent parasités. Ils s'infectent sans doute plus fréquemment en jouant avec des objets souillés de terre et se lavent en général moins que les filles.

Selon les études effectuées aux Etats-Unis, les enfants, par leurs contacts fréquents avec les sols souillés de crottes de chien, sont les plus touchés par la maladie (Wisemann et Woodruff, 1970; De Savigny et Tizard, 1977; Ree *et al.*, 1984; Clemett *et al.*, 1985). Les résultats de notre étude vont à l'encontre de la situation nord-américaine, mais ils sont comparables aux autres données européennes (Glickmann *et al.*, 1987; Magnaval, 1989).

En région jurassienne, la séroprévalence chez les adultes est plus élevée à la campagne qu'en ville. Par contre, elle ne diffère pas chez les enfants. Les paysans sont particulièrement touchés par l'infection, alors que les jardiniers et les bûcherons ne se différencient pas du reste de la population campagnarde. Il faut donc admettre d'autres sources d'infection que la terre. Une enquête menée chez les donneurs de sang a confirmé cette hypothèse. En effet, l'approvisionnement en nourriture (viande, lait) dans les fermes et les pratiques culinaires favorisant la survie des parasites (faible cuisson de la viande) sont plus courantes chez les séropositifs. L'achat de nourriture directement à la ferme est

également plus fréquente pour les campagnards que pour les citoyens. Nous pouvons ainsi définir une personne à risque comme un adulte, se fournissant en nourriture dans une ferme et se nourrissant préférentiellement de viande peu cuite.

En complément à cette étude épidémiologique, nous avons effectué différents tests (dosage des IgE-totaux, des IgE-spécifiques, WB et détermination de l'éosinophilie) pour préciser les résultats obtenus par ELISA IgG.

On observe une convergence de l'ELISA IgE-spécifiques avec l'ELISA IgG (38%) proche de celle relevée par Magnaval (1989) (48%). Restons tout de même prudents car le seuil de notre test IgE-spécifiques a été placé arbitrairement et non mathématiquement. Genchi *et al.* (1982) ont obtenu une convergence de 64% entre les deux tests chez des patients souffrant d'une LMV. Dans notre cas, plusieurs sérums négatifs en IgG ont montré des taux d'IgE-spécifiques anti-*T. canis* élevés (15/653). L'ELISA IgE-spécifiques peut ainsi compléter la sérologie IgG.

La convergence entre la détection de la bande 24 kDa en WB et la séropositivité en ELISA IgG est bonne (50%). Magnaval (1989) proposait d'ailleurs le test WB comme un diagnostic de confirmation pour la toxocarose.

Patterson *et al.* (1975), Brochier *et al.* (1984) signalaient une convergence importante entre les tests ELISA IgE-totaux et ELISA IgG anti-*T. canis*. Dans notre cas au contraire, une très forte divergence a été observée. Leurs analyses concernaient des patients atteints de LMV alors que nous avons effectué notre recherche chez des personnes asymptomatiques. La détermination des IgE-totaux pourrait être recommandée en diagnostic, mais elle est dépourvue d'intérêt dans une étude épidémiologique. Parmi les jurassiens avec des IgE-totaux élevés, 95% (41/43) ne présentaient pas d'IgG spécifiques.

Dans la population asymptomatique jurassienne, il n'existe qu'une très faible convergence entre hyperéosinophilie et séropositivité en ELISA IgG (8%). Nos résultats diffèrent de ceux de la plupart des auteurs qui ont constaté une éosinophilie élevée chez les patients atteints de LMV (Snyder, 1961; Beaver *et al.*, 1952; Shrand, 1964; Huntley *et al.*, 1965; Portùs *et al.*, 1989). Pour Erhard et Kernbaum (1979) l'hyperéosinophilie est même caractéristique de l'infection par *T. canis*. Enfin, dans une zone d'endémie du Sud-Ouest de la France, Magnaval (1989) a relevé une convergence de 41% entre les deux tests. Cette valeur est beaucoup plus élevée que la nôtre mais, l'auteur a effectué un échantillonnage particulier. Dans cette étude, 43% des personnes testées présentaient une hyperéosinophilie (contre seulement 7% dans notre cas). Les deux populations ne sont pas strictement comparables.

En accord avec Magnaval (1989), nous pensons que la détermination des IgE-spécifiques et l'utilisation du WB apporte un complément à l'ELISA IgG dans le diagnostic de la toxocarose. Le premier test augmente la sensibilité du diagnostic et le second semble en améliorer la spécificité. Pour l'épidémiologie, le dosage

des IgG-spécifiques permet de donner une idée globale de l'infection dans une population, le recours à d'autres tests n'apporte que peu d'informations supplémentaires.

4.1.8. Conclusions.

Chez les adultes (plus de 17 ans) de la région jurassienne, la séroprévalence de *T. canis* est comprise entre 6,4% (limite à 80 u) et 9,9% (limite à 50 u). Elle augmente avec l'âge. Elle est identique chez les hommes et les femmes. La séroprévalence est de 3,6% (limite à 50 u) chez les enfants (moins de 17 ans). Elle est plus élevée chez les garçons que chez les filles. La séroincidence (taux d'apparition de nouveaux séropositifs) est de 2 à 3% et la durée moyenne de séropositivité est d'environ 3 ans.

Chez les adultes, la séroprévalence est plus élevée dans les villages que dans les villes, les agriculteurs sont beaucoup plus touchés que les autres (jusqu'à 36% avec une limite à 50 u). Elle est sensiblement plus élevée chez les personnes qui se fournissent en viande et lait à la ferme ou qui se nourrissent de viande peu cuite.

Les résultats des tests ELISA IgE-spécifiques et WB convergent vers ceux du test ELISA IgG. L'éosinophilie et les taux d'IgE-totaux, par contre en divergent fortement.

Afin de mieux comprendre le mode d'infection humaine, nous avons aussi orienté nos recherches sur d'autres étapes du cycle du parasite (voir chapitres suivants). Nous avons tout d'abord considéré les taux d'infection des hôtes définitifs canins et vulpins ainsi que les taux de contamination des sols qu'ils fréquentent, en ville et à la campagne. Nous avons ensuite concentré nos recherches sur une ferme représentative de la région pour mieux percevoir les mécanismes de l'infection des paysans.

Comment estimez-vous vos connaissances de la toxocarose?					
Total	Parfaites	Satisfaisantes	Insuffisantes	Nulles	Pas répondu
187	3 (2%)	36 (19%)	83 (44%)	63 (34%)	2 (1%)
Où situez-vous votre intérêt pour la maladie ?					
Total	Passionné	Intéressé	Indifférent	Pas répondu	
187	2 (1%)	146 (78%)	32 (17%)	7 (4%)	
Avez-vous déjà vu un patient atteint de toxocarose ?					
Total	Oui	Non	Pas répondu		
187	42 (22%)	141 (75%)	4 (3%)		
Estimez-vous la maladie ?					
Total	Fréquente	Endémique	Rare	Très rare	Pas répondu
187	6 (3%)	15 (8%)	98 (52%)	39 (21%)	29 (15%)
Combien avez-vous diagnostiqué de toxocaroses?					
Total	0	1	2	3	> 3
	160 (85%)	19 (10%)	2 (1%)	3 (2%)	3 (2%)
Avez-vous diagnostiqué une toxocarose en 1989?					
Total	Oui	Non			
	4 (2%)	183 (98%)			
Avez-vous déjà suspecté une toxocarose ?					
Total	Souvent	Rarement	Jamais	Pas répondu	
187	4 (2%)	54 (29%)	124 (66%)	5 (3%)	
En cas de suspicion, effectuez-vous une sérologie?					
Total	Oui	Non	Pas répondu		
187	81 (43%)	29 (16%)	77 (41%)		
Vous attendez-vous à diagnostiquer cette maladie chez?					
187	95 (51%)	3 (2%)	8 (4%)	65 (35%)	16 (8%)

Tab. 32. Réponses des médecins au questionnaire sur leur connaissance de la toxocarose.

4.2. Enquête sur la connaissance que les médecins ont de la toxocarose.

En 1989, nous avons envoyé un questionnaire (**annexe VIII**) à 294 médecins de la région jurassienne à propos de leur connaissance de la toxocarose. Cent quatre-vingt-sept (64%) y ont répondu (**tableau 32**). Quelques résultats ont retenu notre attention:

- 21% des médecins seulement estiment que leur connaissance de la toxocarose est satisfaisante ou parfaite, 34% ignorent tout de cette maladie.
- de nombreux médecins souhaiteraient en connaître davantage mais 17% y sont tout-à-fait indifférents.
- trois quarts des médecins n'ont jamais observé un patient atteint de toxocarose; 15% ont, une fois dans leur carrière, diagnostiqué un cas au moins.
- parmi les 187 praticiens, seuls 4 ont diagnostiqué une toxocarose dans l'année 1989.
- la moitié d'entre eux pensent que la maladie touche principalement les enfants. Onze pourcents estiment qu'elle est répandue, alors que 72% y voient une manifestation rare ou très rare.

La séroprévalence élevée IgG anti-*T. canis* dans la région jurassienne (6 à 9% suivant que le seuil du test est fixé à 80 ou 50u) contraste avec le faible nombre de cas diagnostiqués par les médecins. Plusieurs explications sont possibles. D'une part, peu de praticiens sont informés sur cette maladie et une grande partie d'entre eux n'y pensent simplement pas. D'autre part, le plus grand nombre de séropositifs, et peut-être de personnes malades, se rencontre dans la population adulte, alors que les médecins voient dans la toxocarose, une maladie essentiellement infantine.

Il nous paraît donc important de mieux informer les médecins car, comme nous l'avons vu, les risques d'infection sont importants et ceci, spécialement dans les zones rurales.

	Propriétaires contactés Nb.	Réponses		Age moyen des chiens (mois)	Echantillons positifs			
		Nb.	%		<i>T. canis</i> Nb.	%	<i>T. leonina</i> Nb.	%
La Chaux-de-Fonds	80	58	72%	15	6	10%	1	2%
Neuchâtel	102	102	100%	31	4	4%	0	0%
Couvet	47	33	70%	26	1	3%	1	3%
Les Breuleux	28	15	56%	10	2	13%	0	0%
Total	257	208	81%	24	13	6%	2	1%

Tab. 33. Analyses coprologiques des chiens provenant de quatre localités de la région jurassienne.

4.3. T. canis chez l'hôte définitif.

4.3.1. Chez le chien.

En moyenne, 83% des propriétaires de chien contactés nous ont envoyé un échantillon de selles de leur animal et ont répondu à un questionnaire sur les caractéristiques de l'animal, la fréquence des vermifugations et les habitudes de promenades (annexe I). Les résultats des analyses de chaque chien sont détaillés dans l'annexe XI, le tableau 33 en donne un résumé par localité. Des oeufs de *T. canis* ont été trouvés dans les selles de 6% des animaux.

4.3.1.1. Chiens de La Chaux-de-Fonds.

Septante-deux pourcents des personnes contactées ont répondu favorablement à notre enquête. La prévalence de *T. canis* chez les chiens de cette ville atteint 10% (6/58). Le grand nombre de chiens recensés sur les listes communales a permis une sélection suffisante d'animaux de moins de 24 mois. La moyenne d'âge des chiens échantillonnés est de 15 mois. Notre but était de rechercher le parasite chez les jeunes chiens plutôt que de définir le taux d'infection dans la population canine totale. Rappelons que les Ascaridés sont des parasites de jeunesse.

4.3.1.2. Chiens de Neuchâtel.

Toutes les personnes contactées, soit lors d'une consultation vétérinaire, soit par la société de cynologie, ont répondu à l'enquête. Ce mode d'échantillonnage prend aussi en compte les chiens âgés de plus de 24 mois, si bien que la moyenne d'âge des animaux (31 mois) est plus élevée qu'à La Chaux-de-Fonds. La prévalence de *T. canis* est de 4% (4/102).

4.3.1.3. Chiens de Couvet.

Les chiens de moins de 24 mois ne sont pas suffisamment nombreux dans ce village, aussi, des individus plus âgés ont également été considérés. La moyenne d'âge des animaux (26 mois) se situe entre celle des deux villes. Septante pourcents des propriétaires ont envoyé un échantillon de selles de leur animal, dont 3% contenaient des oeufs de *T. canis* (1/33).

	Total	Sexe		Sortie			Verminifugation		
		M	F	Jam.	Rég.	Tj.	Jam.	T.t.	Svt.
La Chaux-de-Fonds Nb.	58	26 45%	32 55%	0 0%	53 91%	5 9%	6 10%	30 51%	22 38%
Neuchâtel Nb.	102	54 54%	47 46%	1 1%	88 86%	13 13%	25 25%	46 45%	31 30%
Couvet Nb.	33	18 55%	15 45%	0 0%	24 73%	9 27%	9 27%	16 49%	8 24%
Les Breuleux Nb.	15	7 47%	8 53%	0 0%	8 53%	7 47%	8 53%	5 33%	2 13%
Total Nb.	208	105 50%	102 50%	1 1%	173 83%	34 16%	48 23%	97 47%	63 30%
Coprologie positive Nb.	13	7 54%	6 46%	0 0%	12 92%	1 8%	5 38%	6 46%	2 15%
Coprologie négative Nb.	195	98 50%	96 50%	1 1%	161 83%	33 17%	43 22%	91 47%	61 31%

Tab. 34. Résultats des questionnaires remplis par les propriétaires de chien (M = mâles; F = femelles; Jam. = jamais; Rég. = régulièrement; Tj. = toujours; T.t. = de temps en temps; Svt. = souvent).

4.3.1.4. Chiens des Breuleux.

Le petit nombre de chiens déclarés dans la commune n'a pas permis un échantillonnage suffisant de la population canine. De plus, sur les 28 personnes qui ont reçu le matériel de prélèvement et le questionnaire, seules 15 (54%) ont répondu. Les chiens étaient âgés en moyenne de 10 mois, deux étaient infectés (13%).

4.3.1.5. Exploitation des données épidémiologiques.

Les données précédentes (**tableau 33**) sont complétées par des renseignements sur le sexe, la fréquence d'administration d'un vermifuge et les habitudes de promenades des chiens (**tableau 34**). Quelques remarques s'en dégagent:

- Le sexe ratio s'approche de 1:1 (54%:46%) chez les chiens indemnes comme chez les chiens infestés. Le sexe ne semble pas influencer le taux d'infestation des animaux.
- L'âge moyen des chiens indemnes est de 25 mois et celui des animaux infestés de 12 mois ($p < 0,05$). Ainsi, les jeunes chiens sont plus souvent porteurs de *T. canis* que les animaux plus âgés.
- La grande majorité des chiens sortent régulièrement. En ville (La Chauv-de-Fonds et Neuchâtel), peu d'animaux restent longtemps à l'extérieur, alors qu'à la campagne, la situation est inverse (Couvet et Les Breuleux). Pourtant, les habitudes de promenades différentes entre ville et campagne n'influencent pas le taux d'infestation.
- Les pourcentages d'animaux n'ayant jamais été vermifugés dans les localités de Couvet et des Breuleux (35%) sont nettement plus élevés qu'à La Chauv-de-Fonds et Neuchâtel (19%) ($p = 0,03$).
- Sur les 48 chiens qui n'ont jamais été vermifugés, 5 présentaient des oeufs de *T. canis* (10%). Alors que sur les 160 animaux traités "de temps en temps" ou "souvent", des oeufs ont été trouvés chez 8 individus seulement (5%). L'utilité des vermifugations semble confirmée bien que ces valeurs ne soient pas statistiquement significatives.
- L'intervalle de temps séparant le dernier traitement de la recherche des parasites est en moyenne de 3,9 mois pour les positifs et de 5,8 mois pour les négatifs (sans tenir compte des animaux qui ne sont jamais vermifugés). Le moment du dernier traitement n'influence donc pas le taux d'infestation. En effet, la proximité temporelle d'une vermifugation devrait logiquement diminuer la prévalence de *T. canis*. Après l'élimination des vers de l'intestin du chien,

	Nb.	
Total	58	100.00%
<i>T. canis</i>	25	43.10%
<i>Uncinaria stenocephala</i>	21	36.20%
<i>Capillaria aerophila</i>	12	20.10%
<i>T. vulpis</i>	5	8.60%
<i>Taenia spp.</i>	4	6.90%
<i>T. leonina</i>	2	3.40%
<i>Eimeria canis</i>	1	1.70%
<i>Ancylostoma caninum</i>	1	1.70%

Tab. 35. Analyses coprologiques des crottes de renard récupérées à la Chau-d'Abel.

une nouvelle infestation et une maturation des parasites est nécessaire avant de retrouver des oeufs dans les selles.

4.3.2. Prévalence de *T. canis* chez les renards.

Les résultats des analyses de 58 crottes de renard prélevées à la Chaux-d'Abel sont présentés dans le **tableau 35**. L'échantillonnage concernait une population constituée de 30 à 60 animaux (Weber com. pers.). Vingt-cinq prélèvements (soit 43%) contenaient des oeufs de *T. canis*, *T. leonina* a été détecté dans 2 crottes (3,4%). D'autres nématodes, des cestodes et des coccidies ont également été observés.

4.3.3. Discussion.

Six pourcents des chiens de la région jurassienne sont infectés par *T. canis*. Comparée aux valeurs européennes, cette prévalence correspond aux 5 et 4% observés en Allemagne (Schaffert et Strauch, 1978; respectivement Hoerchner *et al.*, 1981). Tettamanti *et al.* (1972) en Suisse, Soldati (1972) en Italie et Knaus et Betke (1986) en Allemagne ont, quant à eux, mesuré des taux plus élevés, soit respectivement 12, 13 et 20%.

Chez ces animaux et selon les auteurs, la prévalence paraît plus marquée pour un sexe ou pour l'autre (voir **tableau 1**). D'après nos observations, celle des mâles n'est pas significativement différente de celle observée chez les femelles.

Nous n'avons pas pu tester un échantillon réellement représentatif de la population canine. Nous avons principalement eu recours aux listes communales de recensement des chiens qui ne sont en général déclarés qu'à l'âge de 12 mois. Comme *T. canis* infeste surtout les très jeunes animaux, la prévalence observée dans notre étude est probablement sous-estimée.

La fréquence d'application d'un vermifuge et le laps de temps écoulé depuis le dernier traitement ne semblent pas avoir une influence notable sur le nombre de chiens infestés. Ceci est étonnant car Lloyd et Soulsby (1983) puis Jacobs (1987) ont bien démontré l'efficacité des traitements couramment utilisés. Selon Erhard et Kernbaum (1979), près de 100% des chiens sont infestés au moins une fois dans leur vie, les jeunes animaux étant les plus touchés. Les infestations des adultes sont accidentelles, plus éphémères et moins massives. La vermifugation systématique des animaux prend donc toute son importance chez les chiots et ces derniers ont en grande partie échappé à notre enquête.

Les taux d'infestation des chiens par *T. canis* ne renseignent pas réellement sur la quantité d'oeufs dispersés dans les sols. Celle-ci dépendrait plutôt du nombre

de chiens présents dans une région et de la fréquence à laquelle ils sont vermifugés. En effet, bien qu'il n'y ait que peu de différence de prévalence entre les animaux vermifugés régulièrement et les autres, il est vraisemblable que les vers sont éliminés plus rapidement chez les premiers. Ils ont ainsi moins de temps pour disperser leurs oeufs dans la nature. Nos observations ont montré qu'en ville, les chiens sont traités régulièrement, mais comme ils sont très nombreux, la quantité d'oeufs dispersés dans le sol reste probablement importante. En campagne, par contre, les traitements sont moins fréquents (un animal sur deux n'a jamais été vermifugé aux Breuleux par exemple) mais le nombre de chiens est beaucoup plus faible.

La population vulpine est d'âge relativement homogène car peu d'animaux vivent au-delà de deux ans (Weber, com. pers.). La présence d'oeufs de *T. canis* dans 43% des crottes de renards est sans doute une bonne approximation de la prévalence réelle. Ce résultat est d'ailleurs compris dans la fourchette des valeurs proposées par les autres auteurs (voir tableau 2).

Le taux d'infestation des renards est nettement supérieur à celui observé chez les chiens. Ces animaux sont en général très jeunes et ne sont pas vermifugés. Leur régime alimentaire est composé de proies sauvages, hôtes paraténiques potentiels pour *T. canis*, alors que les chiens sont en majorité nourris de déchets carnés cuits.

Les renards sont très dispersés et évitent le contact des hommes. Les chiens, par contre, sont extrêmement nombreux dans les régions à forte densité humaine. Les oeufs de *T. canis* disséminés par les renards participeraient à un cycle sauvage du parasite (entre renards et micromammifères), alors que ceux évacués par le chien, à un cycle domestique (entre chiens et hommes).

4.3.4. Conclusions.

Six pourcents des chiens de la région jurassienne sont infestés par *T. canis*. Les jeunes animaux sont les plus touchés par le parasite.

Quarante-trois pourcents des crottes de renard récoltées dans une petite zone de cette région (La Chauv d'Abel) contiennent des oeufs de *T. canis*.

La différence de prévalence de *T. canis* peut s'expliquer par la moyenne d'âge plus élevée des chiens, par l'absence de vermifugation des renards et par un régime alimentaire différent entre les deux espèces.

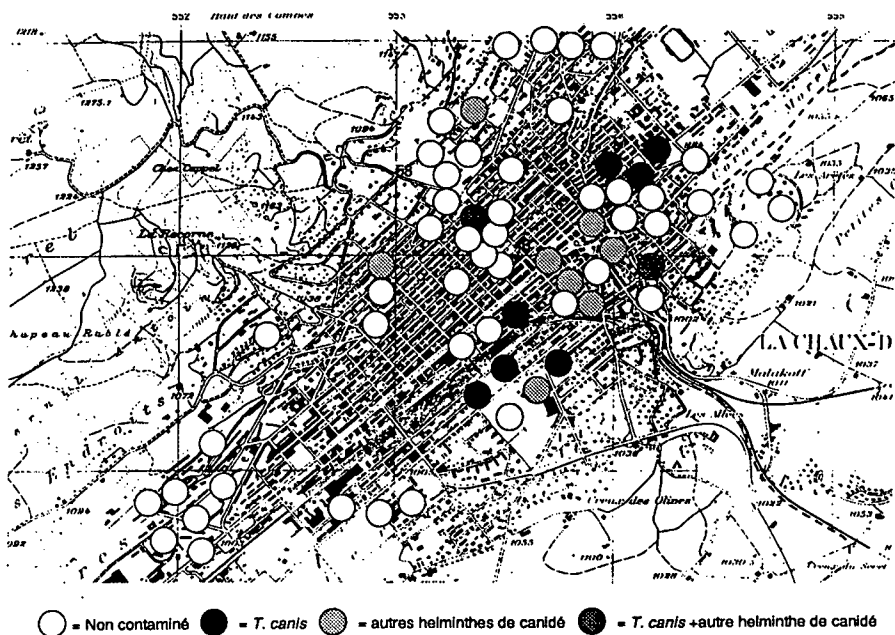


Fig. 12. Prélèvements de sol à La Chaux-de-Fonds.

4.4. Contamination des sols.

4.4.1. Villes et villages.

4.4.1.1. La Chaux-de-Fonds (figure 12).

Sur les 66 prélèvements effectués à La Chaux-de-Fonds, 9 sont contaminés par *T. canis* (13,6%), 10 par *T. vulpis* (15,2%) et 1 par *T. cati* (0,2%) (tableau 36). Vingt-cinq pourcents (17/66) des endroits étudiés sont souillés par les crottes de chiens infectés (échantillons présentant une des deux espèces *T. canis* ou *T. vulpis*). Les zones contaminées sont concentrées plutôt au centre de l'agglomération, alors que les endroits périphériques sont en général indemnes de parasite.

N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.	N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.
14		<i>T. vulpis</i>	30		<i>T. cati T. vulpis</i>
17		<i>T. vulpis</i>	31		<i>T. vulpis</i>
18	(+)		35	(+)	
19	(+)		38	(+)	
20	(+)		44	(+)	
22		<i>T. vulpis</i>	45		<i>T. vulpis</i>
23	(+)		52	(+)	<i>T. vulpis</i>
26		<i>T. vulpis</i>	61		<i>T. vulpis</i>
29	(+)	<i>T. vulpis</i>			

Tab. 36. Prélèvements de sol à La Chaux-de-Fonds (les numéros correspondent à ceux de l'annexe II A).

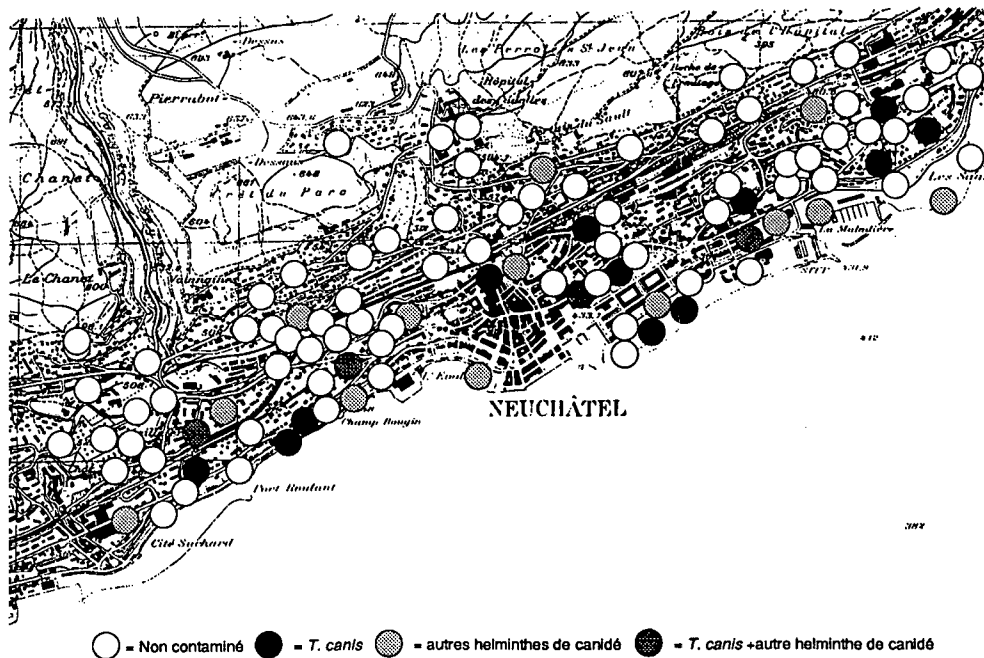


Fig. 13. Prélèvements de sol à Neuchâtel.

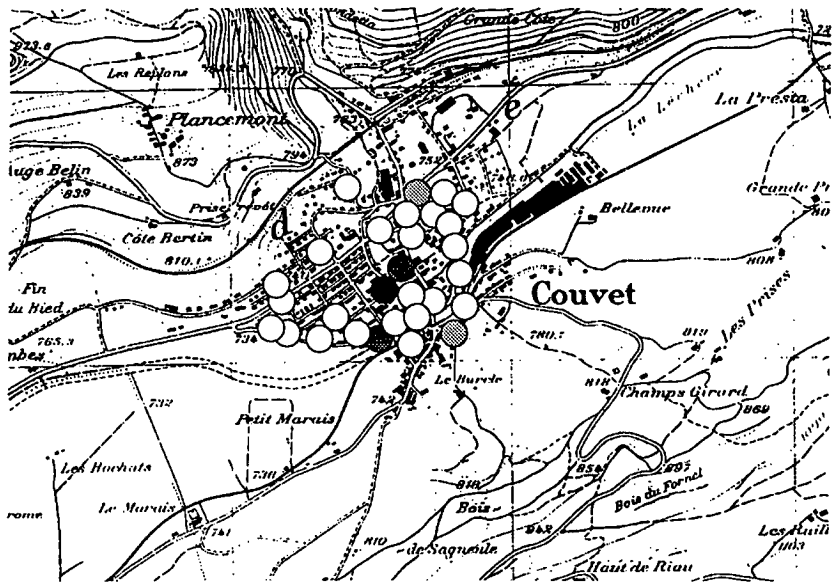
4.4.1.2. Neuchâtel (figure 13).

Cent deux prélèvements ont été effectués à Neuchâtel. Dix-sept (16,6%) étaient contaminés par des oeufs de *T. canis* et 17 (16,6%) par des oeufs de *T. vulpis* (tableau 37). En tenant compte des contaminations multiples, les deux espèces d'helminthes ont été observées dans 30 échantillons (29%). Ces proportions sont légèrement supérieures à celles de La Chaux-de-Fonds.

La répartition géographique des lieux contaminés paraît nettement plus homogène qu'à La Chaux-de-Fonds. Les quartiers périphériques (bordure de forêt) semblent posséder des sols moins souillés que le centre et le bord de lac.

N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.	N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.
11	(+)	<i>T. vulpis</i>	57	(+)	
12		<i>T. vulpis</i>	61	(+)	<i>T. vulpis</i>
13		<i>T. vulpis</i>	63	(+)	
16	(+)		67	(+)	
19	(+)		68		<i>T. vulpis</i>
20	(+)		69	(+)	
22		<i>T. vulpis</i>	72	(+)	<i>T. vulpis</i>
24		<i>T. vulpis</i>	73		<i>T. vulpis</i>
26	(+)	<i>T. vulpis</i>	75	(+)	
32	(+)		81		<i>T. vulpis</i>
32		<i>T. vulpis</i>	87		<i>T. vulpis</i>
37		<i>T. vulpis</i>	88	(+)	
46	(+)		92		<i>T. vulpis</i>
47		<i>T. vulpis</i>	96	(+)	
55		<i>T. vulpis</i>	99	(+)	

Tab. 37. Prélèvements de sol à Neuchâtel (les numéros correspondent à ceux de l'annexe II B).



- = Non contaminé ● = *T. canis* ● (stippled) = autres helminthes de canidé ● (stippled center) = *T. canis* + autre helminthe de canidé

Fig. 14. Prélèvements de sol à Couvet.

4.4.1.3. Couvet (figure 14).

Sur les 30 prélèvements effectués à Couvet, 3 sont contaminés par des oeufs de *T. canis* (10%), 4 par *T. vulpis* (13%) et 1 par *T. leonina* (3,3%) (tableau 38). Compte tenu des contaminations multiples, 5 prélèvements de terre sont souillés par des oeufs d'helminthes de chien (16%), chiffres légèrement inférieurs à ceux des villes de Neuchâtel et de La Chaux-de-Fonds.

A Couvet, la répartition des lieux contaminés au centre du village est moins évidente mais semble tout de même bien réelle.

N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.
1	(+)	<i>T. vulpis</i>
15		<i>T. vulpis</i>
22		<i>T. vulpis</i>
25	(+)	<i>T. leonina, T. vulpis</i>
28	(+)	

Tab. 38. Prélèvements de sol à Couvet (les numéros correspondent à ceux de l'annexe II C).

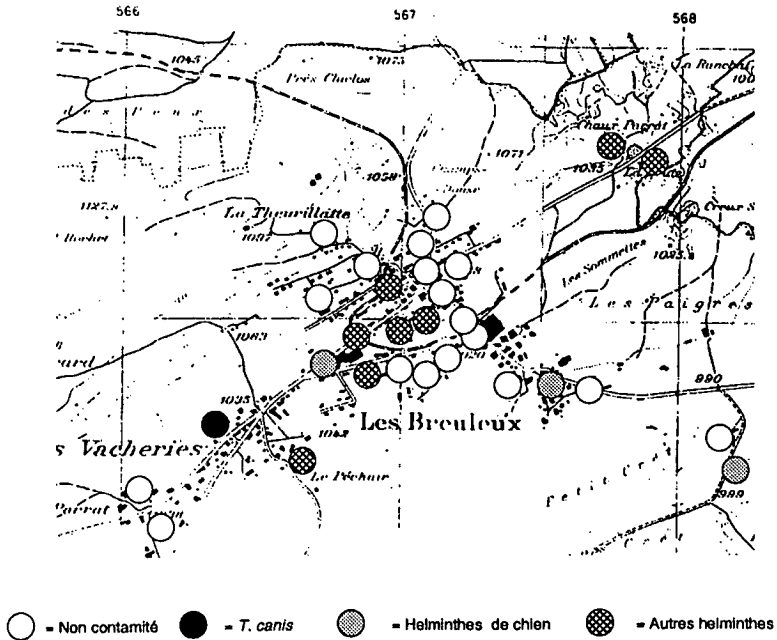


Fig. 15. Prélèvements de sol aux Breuleux.

4.4.1.4. Les Breuleux (figure 15).

Sur les 30 prélèvements, 1 seul échantillon est contaminé par *T. canis* (3,3%) et 3 le sont par *T. vulpis* (10%) (tableau 39). Au total, 4 zones sont donc souillées par des oeufs d'helminthes de chien (13%). Le taux de contamination est le plus faible des quatre agglomérations. Sept échantillons sont contaminés par des oeufs de *Capillaria sp.* (23%) et 1 par des oeufs de *T. cati* (3,3%). La présence de parasites du genre *Capillaria* est éloquent. La vocation agricole de ce village transparait donc dans l'état parasitaire de son sol car ces vers sont des parasites de bovin.

Les endroits contenant des oeufs de *T. canis* et de *T. vulpis* sont situés hors de la localité proprement dite. Aux Breuleux, les lieux contaminés ne sont pas répartis préférentiellement au centre des agglomérations comme nous l'avons observé à La Chaux-de-Fonds, Neuchâtel et dans une moindre mesure à Couvet.

N°	<i>T. canis</i>	Autres sp.
3	(+)	<i>T. cati</i>
5		<i>T. vulpis</i>
6		<i>Capillaria sp.</i>
7		<i>Capillaria sp.</i>
11		<i>Capillaria sp.</i>
17		<i>Capillaria sp.</i>
18		<i>Capillaria sp.</i>
24		<i>T. vulpis</i>
27		<i>T. vulpis</i>
28		<i>Capillaria sp.</i>
29		<i>Capillaria sp.</i>

Tab. 39. Prélèvements de sol aux Breuleux (les numéros correspondent à ceux de l'annexe II D).

Zone	Prélèvement	Nb. oeufs <i>Toxocara canis</i>	Nb. oeufs autres parasite de chien	Nb. oeufs <i>Capillaria sp.</i>	Autres	Zone	Prélèvement	Nb. oeufs <i>Toxocara canis</i>	Nb. oeufs autres parasite de chien	Nb. oeufs <i>Capillaria sp.</i>	Autres
1	A	7				3	A			14	
1	B	1		4		3	B				
1	C			1		3	C	1		4	
1	D	3			<i>Ascaris sp.</i>	3	D			2	
1	E			29		3	E			11	
1	F	3	<i>T. leonina</i>	3		3	F		<i>T. vulpis</i>	1	<i>Ascaris sp.</i>
1	G	3		3		3	G			2	<i>Ascaris sp.</i>
1	H			2		3	H			7	
1	I	57	<i>T. vulpis</i>	3		3	I	1		4	
1	J	2		3		3	J			2	
2	A		<i>T. vulpis</i>	1		4	A	1	<i>T. vulpis</i>	16	
2	B		<i>T. vulpis</i>	8	<i>Ascaris sp.</i>	4	B				
2	C			1		4	C			4	
2	D		<i>T. vulpis</i>	2		4	D			5	
2	E					4	E			9	
2	F			3		5	A		<i>T. vulpis</i>	12	
2	G					5	B			8	<i>Ascaris sp.</i>
2	H					5	C			4	
2	I	1		1		5	D			10	
2	J			6		5	E			9	

Tab. 40. Prélèvements de sol effectués autour de la ferme de La Combe-à-la-Biche (Les zones et les prélèvements correspondent aux données de l'annexe II E).

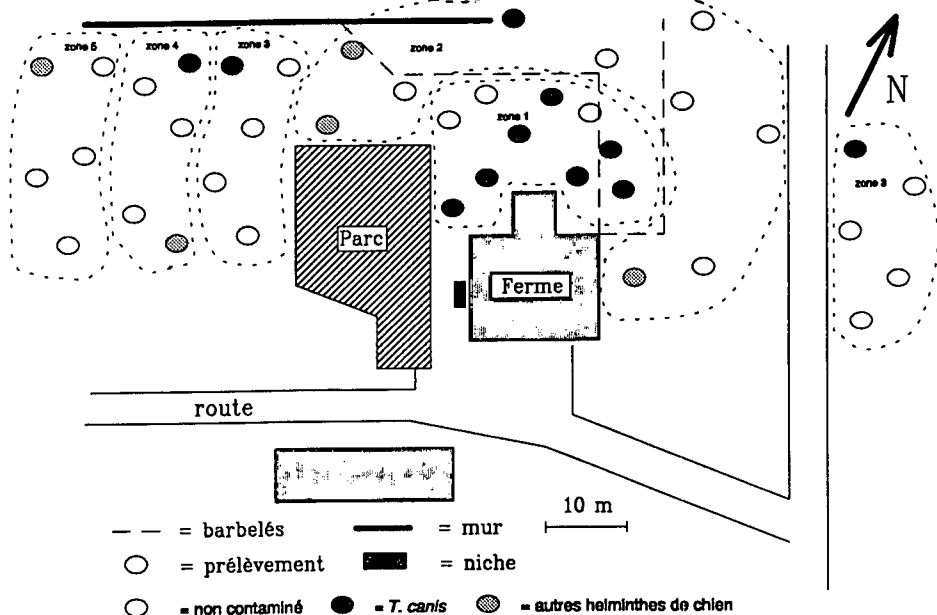


Fig. 16. Analyse du sol autour de la ferme de La Combe-à-la-Biche.

Oeufs de:	Prélèvements																			
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
<i>T. canis</i>				1				1												
<i>T. vulpis</i>				2																
<i>Capillaria sp.</i>		3			2	4	5		3			1		2		3	3	12		4
<i>Ascaris sp.</i>				2					1					1	3					

Tab. 41. Prélèvements de sol effectués en plein champ.

4.4.2. Aux alentours d'une ferme (La Combe-à-la-Biche).

Des échantillons de terre ont été prélevés aux alentours de la ferme de La Combe-à-la-Biche, à raison de 20 prélèvements à proximité de l'habitation (zones 1, 2) et 20 à distance plus respectable (zones 3, 4 et 5). Onze échantillons sont contaminés par *T. canis* (27,5%) (tableau 40). Des oeufs sont présents dans 70% (7/10) des échantillons de la zone 1. Cette prévalence est significativement différente ($p = 0,002$) de celle observée dans les zones 2, 3, 4 et 5 regroupées; soit 13% (4/30). Au total, 16 échantillons contiennent des oeufs d'helminthes de chien indépendamment de l'espèce observée (40%).

Avec 57 oeufs toxocariens, l'échantillon "I" de la zone 1 se différencie nettement des autres. Par extrapolation, il doit probablement en contenir plus de 300 par 25 grammes de terre (voir annexe IX).

Les emplacements des endroits contaminés par *T. canis*, *T. vulpis* et *T. leonina* apparaissent sur la figure 16. Alors que la grande majorité se trouve à proximité de la ferme, ils sont moins nombreux lorsqu'on s'en éloigne. La présence d'oeufs du genre *Capillaria* dans 83% des prélèvements provient des bovins constamment de passage autour de la ferme.

Par comparaison, nous avons prélevé 20 échantillons de sol à une distance d'environ 300 mètres de la ferme (tableau 41). Des oeufs de *T. canis* ont été trouvés dans deux lots seulement (10%), dont un présentait également des oeufs de *T. vulpis*. La prévalence de *Capillaria* (50%) est plus faible qu'aux abords immédiats de l'habitation. Nous trouvons plus souvent des oeufs d'autres ascaridés (4 prélèvements sur 20, soit 20%) qui sont probablement des parasites d'oiseaux.

4.4.3. Discussion.

L'analyse des sols de quatre localités de la région jurassienne a montré la présence d'oeufs de *T. canis* dans 17% des échantillons prélevés à Neuchâtel, 14% à La Chaux-de-Fonds, 10% à Couvet et 3% aux Breuleux. En tenant compte des autres helminthes parasites de canidés, soit *T. vulpis* et *T. leonina*, les sols contaminés par des vers de chien atteignent des valeurs de 29% à Neuchâtel, 23% à La Chaux-de-Fonds, 16% à Couvet et de 13% aux Breuleux.

Les quantités réelles d'oeufs dans les endroits échantillonnés sont sous-estimées. En effet, la sensibilité de la méthode de détection des oeufs n'est pas optimale et comme nous n'avons effectué qu'un seul prélèvement par endroit examiné, un résultat négatif n'exclut pas la présence de parasites. Notre désir n'était pas de connaître la contamination exacte de chaque lieu mais de comparer globalement les différentes agglomérations.

Deux facteurs influencent probablement la quantité d'oeufs présents dans les sols. Le premier est lié à la taille de la localité, le nombre de chiens dépendant directement de la concentration des humains. Le deuxième, et probablement le plus important, réside dans la densité des habitations et, accessoirement, dans la proximité de zones campagnardes. En effet, la dispersion des oeufs de *T. canis* est d'autant plus importante que les aires herbeuses à disposition des chiens sont nombreuses.

Les quartiers périphériques des localités sont en général moins touchés que le centre des villes. Neuchâtel, qui montre le plus de sols contaminés est, à l'échelle jurassienne, une ville de grande taille. Elle est située à une altitude basse et présente peu de dégagement. Dans la situation inverse, le village des Breuleux a montré des taux de contamination des sols très faibles. Il s'agit d'une localité de petite taille, située à une altitude élevée. Elle présente une densité d'habitations faible et se situe à proximité de nombreuses zones campagnardes. La Chaux-de-Fonds et Couvet possèdent des caractéristiques intermédiaires, les taux de contamination de leurs sols sont situés entre ces deux extrêmes.

La comparaison de nos données avec les taux de contamination des sols européens (voir **tableau 3**) n'apporte pas d'informations supplémentaires, les résultats étant trop variables de cas en cas. En Allemagne, par exemple, des différences de 10 à 87% sont observées (Hoerchner *et al.*, 1981; respectivement Dewel, 1984).

Aux alentours immédiats d'une ferme (La Combe-à-la-Biche), de nombreux sols sont contaminés par des oeufs de *T. canis* ou d'autres helminthes de canidés. Les pourcentages diminuent rapidement au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'habitation pour atteindre des valeurs très basses en plein champ. Le rôle des chiens dans la dissémination des oeufs dans l'environnement humain semble

essentiel, les renards ne s'approchant que rarement des habitations. Ces résultats ont probablement un intérêt plus général. En effet, la ferme étudiée, notamment par la présence de chiens et la proximité de pâturages envahis de campagnols, est représentative de l'habitat paysan régional. Les alentours des fermes constituent ainsi de véritables foyers d'infection pour les personnes qui y vivent.

4.4.4. Conclusions.

Les sols de quatre localités de la région jurassienne ont été analysés par flottation au sulfate de magnésium. Des oeufs de *T. canis* ont été trouvés dans 17% des échantillons provenant de la ville de Neuchâtel, 14% de La Chaux-de-Fonds, 10% de Couvet et 3% des Breuleux.

Les conditions qui influencent sans doute le taux de contamination des sols sont de deux types: la taille de la localité et les possibilités de promenades offertes aux chiens.

Les alentours immédiats des fermes sont sans doute de réels foyers d'infection liés à la présence de chiens (souvent non vermifugés). Les taux de contamination du sol qui y sont très élevés, diminuent lorsque l'on s'en éloigne. La haute séroprévalence observée chez les paysans en serait une conséquence.

Nous allons maintenant tenter de mieux préciser le fonctionnement du cycle de *T. canis* en nous concentrant sur les hôtes paraténiques du parasite (micromammifères et bovins). Nous évaluerons également les possibilités de contamination de l'homme par l'intermédiaire de ces hôtes.

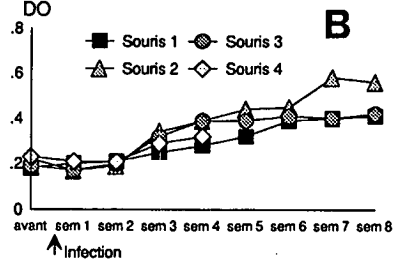
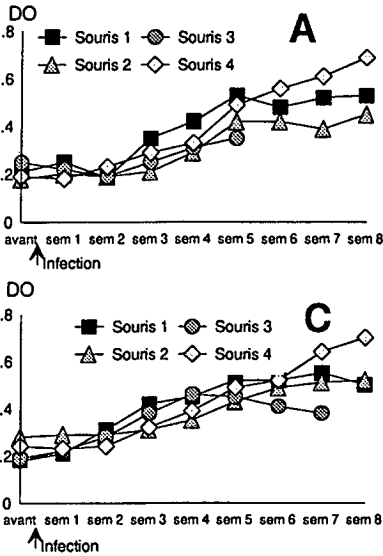
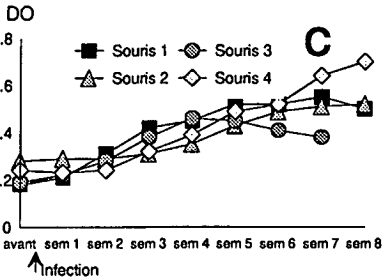


Fig. 17. Courbes de réponse en anticorps spécifiques des souris infectées artificiellement par *T. canis*. **A:** 4 souris infectées par intubation stomacale d'œufs; **B:** 4 souris infectées par injection intrapéritonéale d'œufs; **C:** 4 souris infectées par injection de larves vivantes.



	Groupe A : ingestion d'œufs				Moyenne
	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	
Nb Larves	63	34	morte	78	58
	Groupe B : injection d'œufs				
	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	
Nb Larves	92	56	41	morte	63
	Groupe C : injection de larves				
	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	
Nb Larves	61	52	morte	66	60

Tab. 42. Nombres de larves retrouvées après digestion des souris infectées artificiellement. Chaque animal a reçu 500 œufs ou larves de *T. canis*.

4.5. Hôtes paraténiques expérimentaux et naturels de *T. canis*.

Des souris de laboratoire et des bovins ont été infectés artificiellement par *T. canis*. Nous voulions nous assurer que ces individus, et par extension les rongeurs systématiquement proches, pouvaient constituer un maillon du cycle de ce Nématode. Nous avons mesuré la réponse en anticorps IgG anti-*T. canis* et recherché les larves du parasite dans les tissus et le lait de ces animaux (transmission trans-lactaire). Les résultats obtenus nous ont alors incités à rechercher le parasite chez les hôtes paraténiques potentiels (micromammifères sauvages et bovins) de la région jurassienne.

4.5.1. Hôtes paraténiques expérimentaux (souris blanches).

- Titres d'anticorps IgG anti-*T. canis*.

La **figure 17** présente les courbes individuelles des réponses en anticorps IgG spécifiques des souris infectées par *T. canis*. Les résultats sont donnés en absorbance (DO). Le graphe A présente les titres de 4 individus infectés par intubation stomacale d'oeufs infectieux. Le graphe B concerne les animaux infectés par injection intrapéritonéale d'oeufs, et le graphe C, ceux infectés par injection intrapéritonéale de larves vivantes. La souris N° 3 du groupe A est morte après 5 semaines, la souris N° 4 du groupe B après 4 semaines et la souris N° 3 du groupe C après 7 semaines.

Les titres d'anticorps restent inchangés pendant les deux premières semaines qui suivent l'infection. Ils s'élèvent ensuite progressivement dans tous les groupes. Le groupe B (injection d'oeufs) semble réagir plus faiblement que les deux autres mais les différences ne sont pas significatives. Le mode d'infection des animaux n'a ainsi pas d'influence sur la cinétique de la réponse humorale.

En laboratoire, les souris blanches produisent des anticorps spécifiques de classe IgG face à une infection toxocarienne. On peut raisonnablement supposer que les micromammifères sauvages répondent de la même façon. Aussi, le test sérologique sera utilisé pour dépister un contact des campagnols avec *T. canis*.

- Larves dans les tissus.

Huit semaines après infection, les souris blanches ont été sacrifiées. Les résultats des digestions de leur carcasse sont présentés dans le **tableau 42**. Pour des infections de 500 oeufs ou larves de *T. canis*, de 34 à 92 parasites ont été récupérés par animal (6,8 à 18,4%). A cause de leur rigidité cadavérique, les individus morts pendant l'expérience n'ont malheureusement pas pu être disséqués. Les nombres moyens de larves retrouvées dans les groupes A, B et C sont très proches (respectivement 58, 63 et 60).

SOURIS	Infection Nb. larves	JOUR																				Femelle
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
A	2000		E=1 F=0	E=3 F=1		E=3 F=2		E=7 F=3	E=8 F=3		E=6 F=7	E=2 F=3		E=6 F=1		E=1 F=5		E=2 F=3				F=3 (jour 21)
B	2000			E=2 F=1	E=3 F=6		E=4 F=4	E=2 F=5	E=0 F=0		E=2 F=0	E=4 F=14		E=1 F=3								F=5 (jour 21)
C	2000		E=2 F=0	E=4 F=2	E=0 F=1		E=0 F=0	E=0 F=0	E=0 F=1		E=4 F=3											F=1 (jour 24)
D	2000		E=1 F=1	E=3 F=0	E=1 F=10		(*)	(*)	(*)	(*)	(*)											F=2 (jour 24)
E	2000							E=1 F=3	E=1 F=1	E=2 F=1	E=2 F=1	E=2 F=0	E=0 F=3	E=0 F=0	E=0 F=3						E=0 F=0	F=0 (jour 25)
F	200							F=1	F=0		F=0											F=2 (jour 18)
G	200							F=0	F=1		F=1											F=1 (jour 18)

Tab. 43. Transmission trans-lactaire de *T. canis* chez la souris (* = animal mort en cours d'expérience; E = nombre de larves retrouvées dans l'estomac de l'animal; F = nombre de larves retrouvées dans le foie de l'animal).

La méthode d'infection des animaux (oeufs ou larves, ingestion ou injection) n'influe ni sur la réponse humorale, ni sur la détection des larves dans les tissus. Nous avons choisi l'injection de larves pour la suite des expériences.

- Transmission trans-lactaire des larves de *T. canis*.

Des souris de laboratoire femelles ont été infectées par 2'000 larves de *T. canis* aussitôt après la mise bas. Dès lors, nous avons sacrifié leurs souriceaux tous les deux jours. Les résultats individuels de la digestion des foies et des estomacs des petits ainsi que des foies de ces femelles sont présentés dans le **tableau 43**. Les 5 souriceaux D sont morts après 7 jours d'expérience et ont été dévorés par leur mère. Ils ont été remplacés par ceux de la portée E. Le test Baermann que nous avons utilisé permet d'isoler uniquement les larves mobiles, ce sont donc des parasites vivants et infectieux que nous observons en appliquant cette méthode. Le rendement de l'isolation des larves est impossible à déterminer.

La transmission trans-mammaire des larves de *T. canis* est démontrée chez la souris. Après 18 à 24 jours, des parasites sont encore présents dans le foie des mères, seul l'individu E semble faire exception. Une infestation limitée à 200 larves suffit à réaliser une transmission trans-lactaire (portées F et G), dans ce cas, le nombre de larves transmises n'est pas très éloigné de celui observé chez des souris qui ont reçu des doses dix fois supérieures.

Les larves sont probablement présentes très rapidement dans le lait, car elles sont détectables dans l'estomac des petits dès le deuxième jour de l'expérience. L'efficacité de la transmission trans-mammaire est variable de cas en cas. En effet, les femelles ont toutes reçu la même dose de parasites, cependant elles ne semblent pas les transmettre avec la même efficacité à leurs petits. Les souriceaux de la femelle A, par exemple, sont en moyenne infectés par plus de larves que ceux de la femelle C. De plus, dans une même portée, l'infection des petits n'est pas constante. Si le deuxième souriceau sacrifié de la portée D ne présentait pas de larves dans son foie, celui tué deux jours plus tard, par contre, en montrait 10. Une observation identique peut être faite pour les 6ème et 7ème souriceaux de la portée B. Il n'est donc pas possible d'établir une courbe d'émission des parasites en fonction du temps.

Dès le 17ème jour de l'infestation, plusieurs souriceaux ont été sevrés, ils ont alors commencé à manger des granulés. La consommation de lait (donc de larves) a ainsi certainement diminué. Dès ce moment, les larves détectées dans l'estomac et le foie de ces animaux sont en nombre moindre.

En conclusion, la transmission lactaire de larves de *T. canis* chez la souris débute le deuxième jour de l'infection de la femelle et continue sans interruption pendant toute la durée de l'allaitement des petits. La dose de larves transmises varie d'une souris à l'autre.

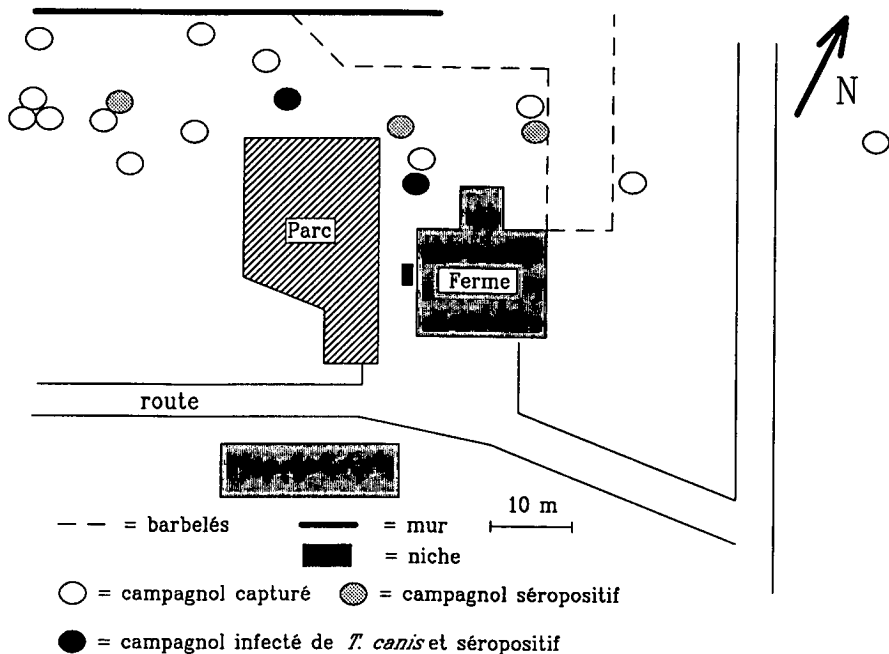


Fig. 18. Localisation des 18 captures de campagnols aux alentours de la ferme de La Combe-à-la-Biche.

Campagnol capturé	Piège N°	Sexe	Poids des animaux	Nb larves <i>T. canis</i>	Sérologie DO	Remarques
1	2	F	97 g		112	
2	2	M	110 g		184	
3	2	F	82 g		197	
4	3	F	96 g		154	
5	5	F	78 g		455	positif
6	5	M	42 g		137	
7	6	M	82 g		108	
8	7	F	71 g		167	
9	9	M	96 g		102	
10	10	M	96 g		175	
11	12	M	38 g	2	207	positif
12	13	M	76 g		388	positif
13	15	M	68 g	1	362	positif
14	15	F	95 g		117	
15	17	M	95 g		178	
16	17	F	82 g		508	positif
17	20	M	55 g		132	
18	25	F	79 g		134	

Tab. 44. Caractéristiques des 18 campagnols capturés. Résultats des digestions de leur foie et des tests sérologiques (DO = absorbance, le numéro du piège ce rapporte à l'annexe II F).

4.5.2. Hôtes paraténiques sauvages (micromammifères sauvages).

Des résultats préliminaires de recherche de larves et de sérologies de campagnols (*Arvicola terrestris*) ont montré que les individus capturés près d'une ferme étaient plus infectés ou montraient des taux d'anticorps anti-*T. canis* plus élevés que ceux capturés en plein champs (Barrientos, 1990). Nous avons voulu préciser ces résultats en concentrant notre recherche autour de la ferme de La Combe-à-la-Biche.

Nous avons réalisé un seul piégeage de micromammifères aux alentours de la maison. Dix-huit *A. terrestris* (10 mâles et 8 femelles) ont été capturés dans 13 trappes (figure 18). Le nombre de captures est beaucoup plus important à l'ouest qu'au nord de l'habitation. Cette répartition découle de la nature du terrain et de l'écologie des animaux. En effet, les campagnols préfèrent les endroits riches en herbe aux pâturages maigres que l'on trouve à l'est de la ferme.

- Larves dans les tissus.

Après digestion des foies de l'ensemble de ces campagnols, 3 larves vivantes appartenant à l'espèce *T. canis* ont été retrouvées dans deux animaux (tableau 44). La détection de ces larves par examen direct certifie sans équivoque le rôle d'hôte paraténique joué par ces micromammifères sauvages.

- Titres d'anticorps anti-*T. canis*.

Par un test ELISA IgG, nous avons cherché à montrer l'infection de ces micromammifères par *T. canis*. Nous avons arbitrairement décidé que l'animal N° 12, infecté par au moins 2 larves, était séropositif. Son titre sérologique a été utilisé comme limite de positivité du test (DO = 0,200). Selon ces critères, 5 animaux (28%) ont sans doute été en contact avec le parasite (tableau 44 et figure 18). Les DO s'échelonnent entre 0,207 et 0,508 pour ces animaux (plus généralement entre 0,102 et 0,508 pour l'ensemble des micromammifères capturés).

4.5.3. Hôtes paraténiques domestiques (bovins).

Deux bovins (A et B) ont été infectés expérimentalement par injection de 30'000 et 80'000 larves de *T. canis* respectivement. Chez ces animaux, nous avons mesuré les titres d'anticorps anti-*T. canis* ainsi que le passage trans-mammaire du parasite qui avait déjà été observé chez des souris blanches. Dans un second

	Sérologes (DO)			
	négatifs (DO < 0,500)		positifs (DO > 0,499)	
Total	136/154	88%	18/154	12%
Femelles	91/101	90%	20/101	10%
Mâles	20/21	95%	1/21	5%
Age moyen	3,4 ans		4,6 ans	

Tab. 45. ELISA anti-*T. canis* chez 154 bovins des Franches-Montagnes.

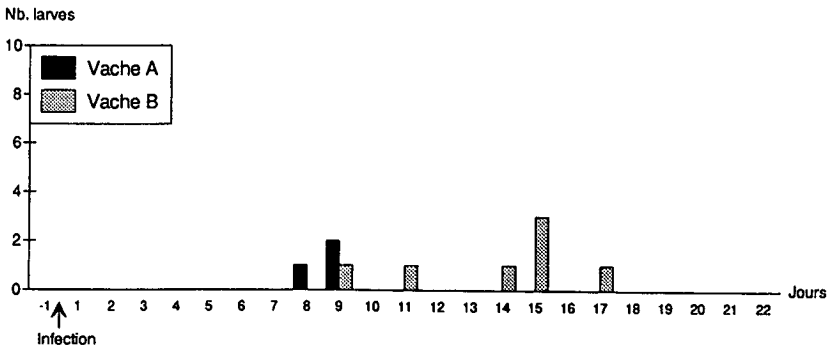


Fig. 19. Apparition des larves de *T. canis* dans le lait de deux vaches en fonction du temps.

temps, nous avons vérifié par sérologie que des bovins de la région des Franches-Montagnes étaient en contact naturel avec le parasite. L'état parasitologique de ces animaux a été contrôlé par coprologie afin d'évaluer la spécificité du test sérologique.

- Titres d'anticorps anti-*T. canis*.

Le test ELISA IgG effectué avec les sérums des vaches A et B indiquait des absorbances respectives de 0,210 et 0,255 avant l'infection expérimentale et de 0,512 et 0,716, 23 jours après celle-ci. Nous observons une élévation des titres d'anticorps anti-*T. canis* chez ces animaux.

Cent cinquante-quatre bovins de la région des Franches-Montagnes (comprenant 101 vaches ou génisses et 21 taureaux ou taurillons) ont également été testés en ELISA. Par prudence, le seuil de positivité de l'ELISA a été fixé arbitrairement à 0,500, ce qui correspond au titre d'anticorps de la vache A en fin d'expérience. Dix-huit animaux (12%) étaient séropositifs (tableau 45). Les femelles sont autant concernées que les mâles, l'âge moyen des animaux positifs est légèrement plus haut que celui des animaux négatifs (respectivement de 4,6 et 3,4 ans).

- Parasites dans les selles.

Afin d'estimer les éventuelles interférences des anticorps dirigés contre d'autres helminthes sur le test ELISA IgG anti-*T. canis*, nous avons vérifié l'état parasitologique des 154 bovins par analyses coprologiques. Trente individus étaient porteurs de divers helminthes (19%). Six d'entre eux étaient infectés de *N. vitulorum* (4%), 10 de *Trichostrongylus axei* (6%), 8 de *Cooperia onchophora* (5%), 6 de *Haemoncus contortus* (4%), 2 de *Trichiuris ovis* (1%), 2 de *Fasciola hepatica* (1%), 1 de *Strongyloides papillosus* (1%), et 1 de *Oesophagostomum radiatum* (1%). Cinq animaux étaient parasités par deux espèces simultanément (3%).

Sur 30 bovins parasités par des helminthes intestinaux, 3 seulement (10%) montraient un résultat sérologique élevé (DO supérieure à 0,500) alors que chez les 124 animaux indemnes de parasite, 15 (12%) ont montré une DO également élevée. Comme il n'existe pas de relation entre la "séropositivité" d'un animal et la présence d'un parasite dans ses selles, la spécificité du test ELISA nous paraît bonne.

- Transmission trans-lactaire des larves de *T. canis*.

Pour la vache A (30'000 larves), 1 puis 2 larves ont été observées dans le lait aux jours 8 et 9 de l'infection (figure 19).

Pour la vache B (80'000 larves), nous avons observé la présence de 1 à 3 parasites dans le lait produit aux jours 9, 11, 14, 15 et 17 de l'expérience. Bien que le nombre de parasites détectés soit faible, la transmission trans-lactaire de larves de *T. canis* chez les bovins est confirmée.

4.5.4. Discussion.

Les expériences utilisant des souris blanches n'avaient pas pour but d'améliorer les connaissances sur les relations immunologiques entre les larves de *T. canis* et ces animaux; aspects qui ont d'ailleurs déjà été traités par plusieurs auteurs (Smith et Beaver, 1953; Oshima, 1961a; Kayes et Oaks, 1976; Dunsmore *et al.*, 1983; Parson *et al.*, 1986; Bowmann *et al.*, 1987a). Nous avons pour but de mettre au point des méthodes adéquates, sérologiques et directes, pour détecter les animaux sauvages et domestiques infectés.

Les tissus des souris blanches infectées expérimentalement par *T. canis* abritent des larves du parasite qui restent vivantes et infectieuses pendant plusieurs semaines (rappelons que le Baermann ne permet d'isoler que des individus mobiles). Ces animaux réagissent à l'infection par une production d'anticorps spécifiques. Par manque de standardisation, le test ELISA ES, quand il est appliqué à des micromammifères souvent multi-parasités, ne peut qu'informer sur la probabilité d'une infection par *T. canis*. En effet, le seuil du test a été choisi de façon arbitraire et les réactions croisées ne doivent pas être sous-estimées. Bien que les souris blanches et les campagnols soient des animaux systématiquement proches, il n'est pas sûr non plus que les deux espèces réagissent de façon identique à l'infection.

L'infection des campagnols (*A. terrestris*) par *T. canis* ne souffre pourtant aucune discussion: des larves ont été détectées après digestion du foie de 11% de ces animaux qui montraient également des titres d'anticorps élevés. Au total, 28% des campagnols capturés montraient des anticorps anti-*T. canis*. Nous avons vu, dans le paragraphe précédent (4.4.), que les sols les plus contaminés se situent vraisemblablement aux alentours immédiats des fermes (plus précisément de la niche des chiens). Les campagnols semblent directement concernés par cette répartition, la quasi totalité des animaux infectés ou séropositifs ayant été capturés à moins de 20 mètres de la ferme de la Combe-à-la-Biche.

Les tests ELISA utilisés pour déterminer la séroprévalence des bovins comme des micromammifères sauvages peuvent être critiqués. Ils n'ont pas été calibrés avec précision et le problème des fausses réactions demeure entier. Pourtant, les 30 bovins qui ont montré des helminthes lors d'une analyse coprologique, ne présentaient pas de titres anti-*T. canis* plus élevés que les autres. De plus, les animaux infestés par *N. vitulorum*, qui est un Nématode systématiquement très proche de *T. canis*, n'ont en majorité pas réagi dans notre test. L'ELISA ES pratiqué chez les bovins semble spécifique. Aussi, les titres d'anticorps observés

chez 12% de ceux-ci résultent-ils sans doute de l'infection par les larves de *T. canis*.

La suspicion de la transmission à l'homme de larves du parasite par consommation de viande est ainsi renforcée (Beaver, 1962; Nagakura *et al.*, 1989).

La transmission trans-lactaire des larves de *T. canis* a été démontrée chez les hôtes paraténiques, micromammifère et bovin. Dans l'estomac des souriceaux, des larves ont été trouvées deux jours déjà après l'infection expérimentale de la mère. Chez les bovins, nous avons observé jusqu'à 3 larves dans le lait produit en un jour. Rapporté au rendement de la méthode, ce sont 264 larves dans 20 litres de lait qui sont émises. La transmission trans-lactaire est bien présente chez la vache, mais elle paraît peu efficace. Est-ce dû à une mauvaise réceptivité des individus utilisés? Le risque de contamination humaine par le lait ne peut pas être écarté. D'autant plus que les personnes achetant lait et viande à la ferme étaient celles se trouvant le plus en contact avec le parasite (voir paragraphe 4.1.6.). Pour prévenir cette infection, le traitement des bovins n'est pas envisageable car les produits anthelminthiques connus ne sont pas suffisamment efficaces, trop éprouvants pour l'animal et trop onéreux.

Chez l'hôte paraténique, les transmissions trans-placentaire déjà observée par Webster (1958), Lee *et al.* (1976), et trans-lactaire que nous avons démontrée sont des phénomènes intéressants. Les facteurs biologiques régissant les relations hôte-parasite sont d'une extrême complexité et l'existence de ces transmissions chez l'hôte définitif canin n'impliquait pas automatiquement la réalité d'un tel passage chez d'autres animaux. D'un point de vue biologique, nous sommes en présence d'un phénomène particulier d'adaptation de la part d'un parasite très spécifique vis-à-vis d'animaux divers. L'hôte paraténique devient un disséminateur géographique de l'infection car, par l'existence des transmissions trans-placentaire et trans-lactaire, la prévalence est multipliée par le nombre de jeunes dans une portée. Le risque d'infection du canidé est accru par son comportement naturel de nutrition.

Les risques d'infection de ce dernier augmente non seulement en tant que carnivore, mais également en tant que consommateur de lait. Il peut ainsi s'infecter pratiquement dans les mêmes conditions que l'hôte définitif. D'autre part, la détection de larves de *T. spiralis* dans le lait maternel d'une femme (Saltzer, 1916), nous amène à penser que la transmission trans-lactaire de larves de *T. canis* chez l'homme n'est pas exclue. Elle pourrait représenter un facteur non négligeable d'infection pour les jeunes enfants.

4.5.5. Conclusions.

Des souris blanches et des bovins ont été infectés artificiellement par des larves de *T. canis*. Ces individus ont réagi à l'infection par une production et une élévation significative des anticorps spécifiques de classe IgG. Cette observation a permis la mise au point de tests sérologiques ELISA utilisables sur des animaux sauvages et domestiques.

Des campagnols (*A. terrestris*) ont été piégés autour d'une ferme de la région jurassienne (La Combe-à-la-Biche). Nous avons trouvé des larves de *T. canis* dans les tissus de deux d'entre eux. En tenant compte des résultats sérologiques, 28% de ces micromammifères avaient sans doute été infectés par le parasite. La majorité des captures de campagnols positifs ont été réalisées aux alentours immédiats de la ferme. Cette observation est à mettre en rapport avec les précédents résultats sur la présence d'oeufs de *T. canis* dans les sols à proximité de cette exploitation.

Douze pourcents des bovins de la région jurassienne (en particulier des Franches-Montagnes) présentent des anticorps anti-*T. canis*. La transmission trans-lactaire des larves du parasite a été prouvée chez les hôtes paraténiques. Elle nous est apparue beaucoup plus efficace chez les souris que chez les bovins, bien que les faibles rendements observés pour ces derniers puissent être liés aux techniques de détection des larves dans le lait. Les larves apparaissent dans le lait des vaches dès le septième jour de l'infection et dans l'estomac des souriceaux, après deux jours déjà. L'infection de l'homme par consommation de lait cru, ainsi que de viande, paraît donc vraisemblable.

5. DISCUSSION GENERALE.

5.1. Fonctionnement du foyer jurassien à *T. canis*.

L'étude des différentes facettes du cycle de *T. canis* dans la région jurassienne a permis plusieurs observations dont certaines sont originales: bon nombre de chiens et de renards sont infectés; les sols sont contaminés par les oeufs du parasite dans de nombreux endroits; des L II sont présentes chez des hôtes paraténiques sauvages et domestiques; la toxocarose humaine, bien que rarement diagnostiquée (4 cas en 1989), est présente; la haute séroprévalence laisse supposer une fréquence de la maladie bien plus élevée.

T. canis est donc un nématode très répandu; les oeufs, les larves et les adultes de ce ver sont partout présents dans cette région. Les possibilités d'infection de l'hôte définitif sont très nombreuses et, par la grande dispersion du parasite à chacun de ses stades, ce dernier a atteint une extraordinaire efficacité dans l'accomplissement de son cycle.

Les mécanismes responsables de l'infection des humains et des canidés sont similaires. L'homme peut ingérer les oeufs disséminés dans les sols, mais il peut également s'infecter par consommation de nourriture contaminée. Dans la région jurassienne, la séroprévalence infantine est partout inférieure à celle des adultes. La situation est différente aux Etats-Unis où les individus les plus infectés sont des enfants ayant une hygiène médiocre (Glickmann *et al.*, 1979c). En campagne, la séroprévalence des adultes est plus élevée qu'en ville alors que pour les enfants aucune différence statistique n'est observée. Nous en déduisons que, dans nos cités comme aux Etats-Unis, les infections sont principalement dues à des comportements géophagiques et que les enfants y sont plus exposés. En campagne, par contre, la situation semble plus complexe: la séroprévalence plus élevée des adultes ne peut découler uniquement de contacts avec des sols souillés.

Une fraction de la population campagnarde est particulièrement touchée par le parasite. Selon le seuil du test ELISA IgG considéré, 28 à 36% des paysans montrent des titres significatifs d'anticorps. Ces valeurs sont 5 fois plus élevées que celles observées chez les citadins. Même si de nombreux agriculteurs sont séropositifs en toxocarose, cette fraction de la population ne peut à elle seule expliquer la séroprévalence adulte plus élevée à la campagne qu'en ville: ils ne représentent en effet que 6% des campagnards.

Nous avons complété nos observations par une enquête sur les habitudes alimentaires et comportementales de donneurs de sang. Les personnes qui se

fournissent en nourriture à la ferme (viande, lait) et celles qui se nourrissent de viande peu cuite, comptent parmi elles de nombreux séropositifs. Ce sont essentiellement des campagnards qui sont donc particulièrement exposés au parasite.

Afin de mieux préciser les modalités de l'infection humaine par *T. canis*, nous avons étudié le parasite chez ses hôtes définitifs (chiens et renards) et chez ses hôtes paraténiques (campagnols et bovins), ainsi que la présence de ses oeufs dans les sols.

Pour le chien, les sources d'infection sont multiples. Les transmissions trans-placentaire et trans-mammaire en représentent probablement les plus importantes (Stoye, 1976a et b; Vossman et Stoye, 1986). Il s'agit de stratagèmes qui assurent un rendement maximum au cycle du parasite. En effet, sans l'existence de ces transmissions, les L II enkystées dans les tissus de la chienne seraient perdues, car elles ne peuvent se développer en adultes que chez les canidés immatures (Euzeby, 1963).

Le renard est également un hôte définitif de *T. canis*. L'étendue de son domaine vital (habituellement de 1 à 2 km², Weber, com. pers.) entraîne une grande dissémination des oeufs du parasite. Les taux de contamination des sols qu'il fréquente, en dehors des agglomérations et à l'écart des fermes, sont faibles. L'infection par ingestion d'oeufs ne semble pas prédominante pour cet animal. La prédation d'hôtes paraténiques est probablement essentielle d'autant plus que son régime alimentaire est constitué de proies sauvages. L'éradication complète du parasite par traitement des chiens ne peut donc réellement être atteinte, car les renards maintiennent un cycle sauvage et restent les pourvoyeurs du milieu en oeufs. Bien qu'hôte définitif, il constitue également un hôte réservoir de *T. canis* pour le chien.

Dans la région jurassienne, 3 à 17% des échantillons de sol sont contaminés par des oeufs de *T. canis*, les taux étant plus élevés dans les milieux citadins qu'à la campagne. Le grand nombre de chiens dans les villes et le peu de surfaces à leur disposition favorisent la concentration des oeufs; en campagne par contre, les grandes aires à disposition provoquent la dissémination des oeufs. Même régulièrement vermifugés, les chiens urbains émettent davantage d'oeufs que les quelques chiens campagnards rarement traités. La densité de l'hôte définitif détermine donc la concentration des oeufs dans un biotope.

L'existence d'une zone à hauts taux de contamination aux alentours immédiats d'une ferme (La Combe-à-la-Biche) ne contredit pas les observations attestant une prévalence citadine plus élevée qu'en campagne. Géographiquement très ponctuelle, cette situation n'augmente pas la dissémination des oeufs. En effet, leur grande concentration sur une surface aussi délimitée (quelques dizaines de mètres carrés) agit sans doute principalement sur l'auto-infection des chiens de la ferme mais n'a probablement que peu d'importance sur les infections des hôtes définitifs plus éloignés.

Nous confirmons que le rôle des hôtes paraténiques dans le cycle sauvage de *T. canis* est important (Euzéby, 1963). Le canidé disperse les oeufs du parasite sur les sols, ce qui diminue les probabilités d'infection de ses congénères. Les herbivores et les omnivores, par contre, sont en contact privilégié avec ces oeufs. Ils peuvent les ingérer avec leur nourriture et accumuler les larves dans leurs tissus. Cette concentration du parasite est encore amplifiée par la transmission de l'infection au travers des chaînes alimentaires. Ainsi, l'infection d'un chien peut découler, par prédatons successives, de l'infection d'un insecte (Euzéby, 1963). Les hôtes paraténiques agissent ainsi comme de véritables "entonnoirs" parasitologiques. Les transmissions trans-placentaire et trans-lactaire chez ces hôtes contrecarrent cette accumulation du parasite et favorisent à nouveau la dissémination des larves.

L'importance de l'hôte paraténique dans le cycle de *T. canis* n'est pas égale dans tous les milieux. En effet, au contraire des chiens des campagnes, ceux des villes ne se nourrissent que rarement d'animaux vivants. Ils ne peuvent s'infecter que par ingestion d'oeufs ou par les voies trans-placentaire et trans-mammaire.

La recherche de larves de nématodes dans la viande serait possible mais laborieuse (Herlich, 1956). Par manque de techniques suffisamment sensibles, la présence de larves de *T. canis* n'a jamais été démontrée dans la viande de boucherie. Cependant, des anticorps spécifiques anti-*T. canis* ont été détectés chez les bovins que nous avons analysés. Comme la valeur de notre test ELISA n'a pas été évaluée, la prudence doit être de mise quant à l'interprétation de ces résultats. Beaver (1962) et Nagakura *et al.* (1989) ont suspecté l'infection humaine par consommation de viande contaminée. Mastandrea et Micarelli (1968) ont observé la présence d'oeufs du parasite sur les légumes vendus au marché. Nous avons démontré la transmission trans-lactaire chez les hôtes paraténiques si bien que la transmission du parasite par consommation de lait peut être envisagée.

Les observations réalisées à La Combe-à-la-Biche ont montré que les diverses formes infectieuses de *T. canis* (oeufs, larves) sont constamment présentes dans l'environnement des agriculteurs et leurs animaux d'élevage. Ceux-ci peuvent ingérer des oeufs au cours de leur activité professionnelle et, bien que cela soit plus difficile à estimer, ils peuvent également s'infecter par consommation de viande, de légumes et de lait de leur production. Nous avons en effet démontré que les sols entourant la ferme étaient fortement contaminés par les oeufs du parasite, que les bovins présentaient des anticorps anti-*T. canis* et que les larves pouvaient passer dans le lait de ces animaux. Ces divers modes d'infection expliqueraient les séroprévalences élevées observées chez les campagnards. Par contre, les aliments consommés dans les cités sont produits dans des conditions industrielles qui sont plus aseptisées. L'infection humaine n'est donc pas uniquement due à un problème d'hygiène mais semble également provenir d'habitudes nutritionnelles.

Les taux de séropositivité observés aux USA, plus élevés chez les enfants que chez les adultes, sont probablement dus aux habitudes alimentaires des

américains qui se nourrissent préférentiellement de viande bien cuite et d'aliments stérilisés.

L'intervention de *T. cati* et de *T. leonina* dans l'étiologie de la toxocarose reste mal définie car il n'est pas possible de différencier sérologiquement une infection par *T. canis* d'une infection par l'une ou l'autre de ces deux espèces (Kennedy *et al.*, 1987). Seuls des anticorps monoclonaux reconnaissent spécifiquement *T. canis* de *T. cati* (Bowmann *et al.* 1987b). Il est peu probable que *T. leonina* accomplisse une migration somatique chez l'homme, le cycle endogène du parasite chez le chien se limitant à la paroi de l'intestin grêle (Euzeby, 1963). Quant à *T. cati*, il effectue une migration somatique chez son hôte définitif ce qui rend probable l'infection des humains par les larves de cette espèce. Pourtant, en enterrant ses crottes, le chat met les oeufs hors de portée, ce qui diminue les risques de contamination de l'homme. L'infection humaine par *T. cati*, bien que possible, est sans doute rare (Nichols, 1956; Burren, 1971; Schantz *et al.*, 1980).

Les transmissions trans-placentaire et trans-lactaire des larves de *T. canis*, très efficaces chez la chienne, sont également observables chez des animaux non canidés. Webster (1958) et Lee *et al.* (1976) ont montré l'infection du fœtus chez la souris et nous avons prouvé le passage du parasite dans le lait de micromammifères et de bovins. L'homme se comporte probablement comme un hôte paraténique habituel et nous pouvons postuler l'existence de tels processus chez la femme. Des enfants pourraient ainsi naître infectés ou s'infecter par l'allaitement.

La toxocarose n'est que rarement diagnostiquée dans la région jurassienne (4 cas durant l'année 1989), mais tout porte à croire que la prévalence réelle de cette maladie est plus élevée. Cette situation est probablement due à une méconnaissance de la parasitose de la part des médecins. Cette région peut être considérée comme une zone d'endémie car de nombreux chiens sont infestés, de nombreux hôtes paraténiques sont infectés, de nombreux sols sont contaminés, ainsi la séroprévalence humaine est élevée.

Les impacts économiques de *T. canis* dans la population jurassienne sont difficilement mesurables. Magnaval (1989) a chiffré le coût de cette maladie pour la Sécurité Sociale à plus de 23 millions de francs français pour la seule Région Midi-Pyrénées. Dans notre pays, il serait essentiel de développer un programme de lutte contre le parasite ou tout au moins de réduire les risques de l'infection humaine.

5.2. Diagnostic de la toxocarose.

Le test ELISA IgG avec des antigènes ES convient tout à fait à une étude épidémiologique comme la nôtre. En effet, sans approche clinique, la séroprévalence constitue la meilleure indication sur l'étendue d'une maladie dans une région (Glickmann *et al.*, 1979c; Josephs *et al.*, 1981; Thompson *et al.*, 1986; Lynch *et al.*, 1988). Pour un diagnostic plus précis et intéressant avant tout les médecins, la méthode ne suffit pas, un résultat sérologique n'informant que sur la probabilité d'un contact avec le parasite. Les résultats des biopsies hépatiques sont trop aléatoires et leur réalisation trop éprouvante pour être appliquée dans le diagnostic d'une maladie somme toute, le plus souvent, relativement bénigne.

Par manque d'un diagnostic direct, la sensibilité, la spécificité et les valeurs de prédiction du test ELISA IgG ne peuvent être calculées avec certitude. Nous avons tout de même estimé chacun de ces paramètres en considérant les résultats du test chez 37 patients atteints de toxocarose cliniquement établie, et chez 6100 donneurs de sang asymptomatiques de la région jurassienne. La sensibilité et la spécificité de l'ELISA IgG s'élèvent respectivement à 75,5% et 97%. De plus peu de sérums de personnes atteintes d'autres parasitoses ont cross-réagi. Compte-tenu de la haute séroprévalence observée dans la région jurassienne (6,3%), la valeur de prédiction d'un résultat positif atteint 62%, celle d'un résultat négatif 98%. L'efficacité du test est de 92%, ce qui est satisfaisant compte tenu de la basse sensibilité.

Des titres élevés d'IgE-totaux ou une hyperéosinophilie sont peu corrélés avec la présence d'anticorps spécifiques anti-*T. canis*. L'influence d'une infestation sur ces données de laboratoire semble faible.

Le WB et l'ELISA IgE-spécifiques apportent quelques indications diagnostiques supplémentaires. La détection des IgE-spécifiques complète la sérologie IgG en améliorant la sensibilité des résultats. La détection d'une bande de 24 kDa en WB signe une infection, malheureusement avec une sensibilité légèrement inférieure à celle de l'ELISA IgG (Magnaval, 1989). Le WB est ainsi intéressant comme méthode de confirmation.

Pour la détection des LMO, l'ELISA IgE-spécifiques avec de l'humeur vitrée semble plus sensible que l'ELISA IgG (Genchi *et al.*, 1988). Enfin, la recherche d'immunocomplexes spécifiques a été envisagée, les résultats en sont prometteurs (Aguila *et al.*, 1987).

5.3. Lutte contre *T. canis*.

Théoriquement, la lutte contre *T. canis* peut être envisagée à toutes les étapes de son cycle. En réalité, ce n'est que certains stades du parasite qui sont atteignables.

- 1) une lutte efficace contre les oeufs de *T. canis* est difficile car, comme nous l'avons observé, ils sont très disséminés. La majorité des produits antiseptiques n'ont que peu d'action sur les oeufs. De plus, la nature et les concentrations des substances efficaces ne les rendent utilisables que dans des espaces confinés. Les bactéricides ne sont pas toujours indiqués car ils détruisent également les bactéries de la putréfaction qui normalement, par leurs processus de fermentation, privent les oeufs d'oxygène (Euzeby, 1963). Les oeufs sont sensibles à la vapeur (Knapen et Franchimont, 1979) et à des doses importantes d'ultrasons (Bouchet et Léger, 1984). Ces méthodes ne sont valables que pour la stérilisation des bacs à sable et autres WC pour chiens. Elles nous paraissent inappropriées dans un contexte plus vaste.
- 2) les L II, moins dispersées que les oeufs, sont aussi plus sensibles aux produits toxiques (Nicholas et Stewart, 1979; Abdel-Hamed, 1984; Abo-Shehada et Herbert, 1984; Jacobs, 1987). Malheureusement, les hôtes définitifs ou paraténiques qui les hébergent sont très variés et supportent mal les traitements. De plus, les produits habituellement utilisés ne semblent agir que sur les larves non enkystées (Magnaval, 1989). Une telle intervention ne peut être envisagée pour la prévention de la maladie ou l'éradication du parasite, mais uniquement dans un but thérapeutique.
- 3) au stade adulte, *T. canis* est beaucoup moins résistant. Confiné dans l'intestin de l'hôte, il est directement à portée des vermifuges (pipérazine, pyrantel). Une interruption du cycle n'est réellement envisageable qu'à ce stade évolutif du parasite.

Pour parvenir à un contrôle efficace de la maladie, les mesures suivantes peuvent être conseillées:

- les propriétaires de chien doivent être informés sur cette parasitose; le travail informatif des vétérinaires paraît essentiel en cela (Schantz et Glickman, 1979). Les animaux devraient être vermifugés régulièrement, spécialement pendant les mois qui suivent leur naissance.
- les chiens ne devraient déféquer que dans les endroits réservés à cet effet (WC pour chiens), et il faut naturellement veiller à ce que les enfants ne jouent pas dans de tels endroits.

- l'hygiène générale devrait être améliorée, particulièrement à la campagne. Il est utile de bien laver les légumes et de se laver les mains après avoir manipulé de la terre.
- les médecins devraient être mieux renseignés sur la maladie. Ils devraient demander une analyse sérologique lors de l'apparition de signes cliniques évocateurs.
- il est impératif que la population paysanne soit mieux informée sur les moyens de prévention. Elle doit également être mieux suivie sur le plan médical.

6. CONCLUSIONS.

L'étude épidémiologique de la toxocarose dans la région jurassienne a permis d'observer que:

- en ELISA IgG, la séroprévalence moyenne chez les humains est de 6,3% avec une limite à 80 unités (9% à 50 unités). Elle est moins élevée chez les enfants que chez les adultes (respectivement 3,6 et 9,9% à 50 unités). La séroincidence (taux d'apparition de nouveaux séropositifs en une année) est de 2 à 3%, et la durée moyenne de séropositivité est d'environ 3 ans. La séroprévalence est plus élevée dans les villages que dans les villes. Elle atteint 36% (seuil à 50 unités) chez les agriculteurs. Les personnes qui se nourrissent de viande peu cuite, et celles qui se fournissent en lait et en viande à la ferme, présentent plus souvent des anticorps que les autres.
- la grande majorité des médecins estiment ne pas ou peu connaître la toxocarose, affection qu'ils considèrent par ailleurs comme très rare. Seuls 4 praticiens sur 187 en ont diagnostiqué une dans l'année 1989, ce qui contraste avec la haute séroprévalence observée dans la région.
- chez les hôtes définitifs, 6% des chiens étudiés sont infectés par *T. canis*. La prévalence est plus élevée chez les jeunes que chez les animaux plus âgés. Pour les renards, 43% des crottes analysées contiennent des oeufs du parasite.
- de 3 à 17% des sols de la région sont contaminés par des oeufs de *T. canis*. Les prévalences sont plus élevées dans les villes qu'en campagne; la proximité et l'étendue des zones de promenades jouent un rôle important dans la dispersion des oeufs. Les sols aux alentours immédiats d'une ferme (La Combe-à-la-Biche) sont de véritables sources d'infection, leur contamination diminue rapidement lorsqu'on s'éloigne de l'habitation. Une situation épidémiologique similaire se rencontre sans doute dans les autres fermes de la région.
- 28% des campagnols piégés aux alentours de la ferme (La Combe-à-la-Biche) sont séropositifs. Deux individus présentaient des larves de *T. canis* dans leurs tissus.
- 12% pourcents des bovins des Franches-Montagnes réagissent positivement en ELISA (IgG) anti-*T. canis*. Ils sont sans doute infectés par les L II de *T. canis*.
- la transmission trans-lactaire des larves de *T. canis* a été démontrée chez les micromammifères (souris de laboratoire) et chez les bovins.

Ainsi, *T. canis* infecte fréquemment les animaux domestiques ou sauvages et les humains de la région jurassienne. Les taux de contamination des sols sont élevés. Les médecins doivent être sensibilisés à la parasitose qui est sans doute plus fréquente que les quelques cas diagnostiqués chaque année. Le test sérologique ELISA IgG peut confirmer un diagnostic clinique évocateur. La lutte contre ce parasite ne peut être envisagée que par le traitement systématique des chiens et par des mesures d'hygiène urbaines, telles que la stérilisation des WC pour chiens dans les parcs publics. Une attention particulière doit également être portée à la population paysanne, plus fréquemment en contact avec le parasite.

QUESTIONNAIRE D'ENQUETE SUR LES PARASITES DE CHIEN.

Date: .. / .. / 19..

Propriétaire:

Nom: Prénom:

Adresse:

Possédez-vous d'autres chiens? Non / Oui Chien:

Nom: Race:

Age: Sexe: Masculin / Féminin

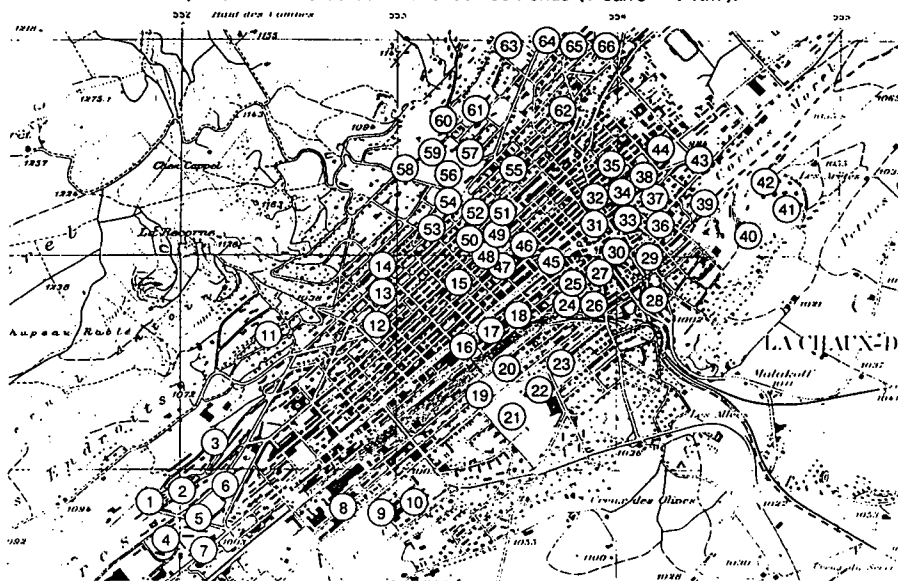
Habitues:

Ne sort jamais
Sort régulièrement
Toujours dehors

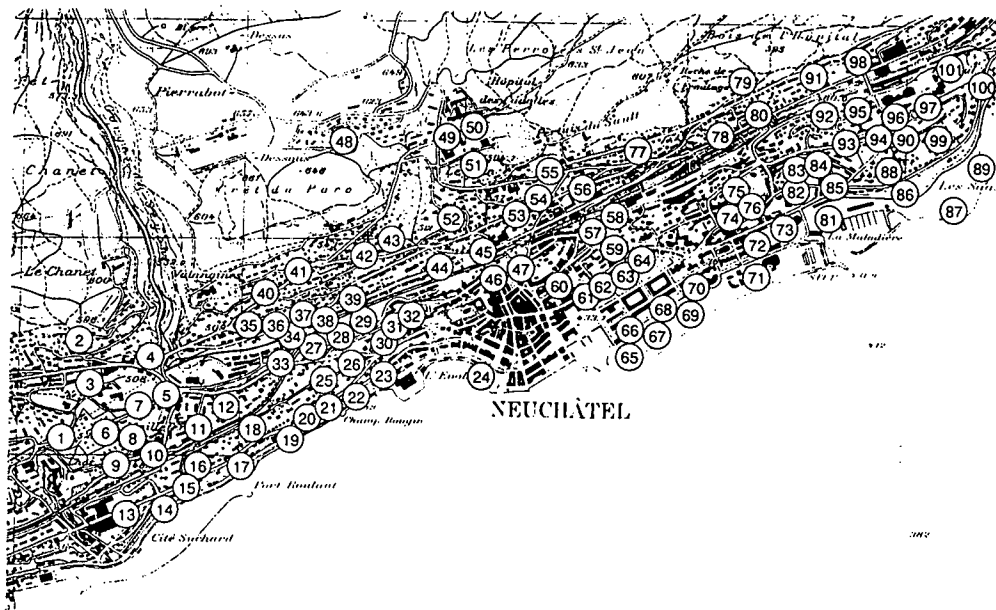
Est-il traité contre les vers:

Jamais
De temps en temps
Souvent

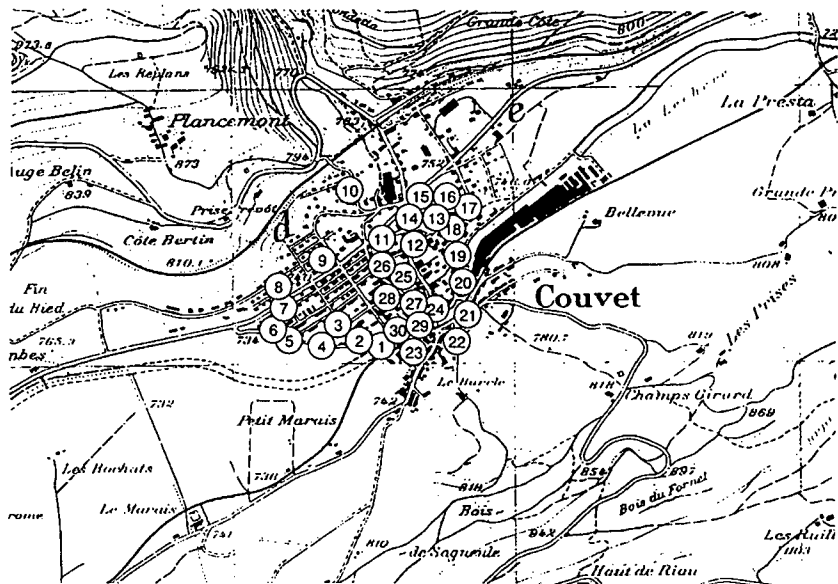
Dernier traitement au mois de :

A) Prélèvements de sol à la Chaux-de-Fonds (1 carré = 1 Km²).

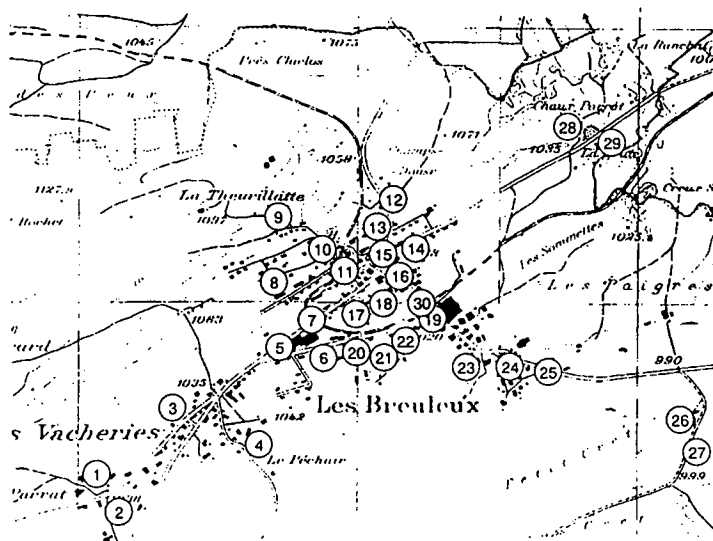
N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement
1	bac à sable	34	bac à sable
2	place publique	35	parc public
3	parc public	36	école enfantine
4	bac à sable	37	place publique
5	bac à sable	38	place publique
6	école enfantine	39	place publique
7	bac à sable	40	école enfantine
8	bac à sable	41	bac à sable
9	bac à sable	42	bac à sable
10	école enfantine	43	parc public
11	bac à sable	44	parc public
12	école enfantine	45	école enfantine
13	place publique	46	place publique
14	place de jeu	47	place publique
15	parc public	48	place publique
16	parc public	49	bac à sable pour chien
17	bac à sable pour chien	50	bac à sable pour chien
18	parc public	51	école enfantine
19	parc public	52	parc public
20	parc public	53	place de jeu
21	bac à sable	54	parc public
22	école enfantine	55	école enfantine
23	parc public	56	parc public
24	parc public	57	parc public
25	parc public	58	parc public
26	bac à sable pour chien	59	parc public
27	bac à sable	60	bac à sable
28	place publique	61	place de jeu
29	bac à sable pour chien	62	place publique
30	place publique	63	place publique
31	bac à sable	64	école enfantine
32	place publique	65	bac à sable
33	bac à sable pour chien	66	école enfantine

B) Prélèvements de sol à Neuchâtel (1 carré = 1 Km²).

N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement
1	place de jeu	31	école	61	bac à sable pour chien	91	place publique
2	parc public	32	école	62	bac à sable	92	place publique
3	bac à sable	33	parc public	63	bac à sable	93	parc public
4	bac à sable pour chien	34	bac à sable	64	parc public	94	place publique
5	place publique	35	bac à sable	65	bac à sable	95	bac à sable
6	bac à sable	36	place publique	66	place publique	96	place de jeu
7	bac à sable	37	bac à sable	67	place de jeu	97	place de jeu
8	bac à sable pour chien	38	place publique	68	place de jeu	98	place publique
9	bac à sable pour chien	39	place de jeu	69	place publique	99	bac à sable
10	place publique	40	place de jeu	70	bac à sable	100	place publique
11	place de jeu	41	parc public	71	bac à sable	101	bac à sable pour chien
12	parc public	42	parc public	72	école	102	bac à sable
13	bac à sable	43	parc public	73	parc public		
14	bac à sable	44	bac à sable pour chien	74	place publique		
15	place de jeu	45	place publique	75	bac à sable		
16	bac à sable	46	place publique	76	école		
17	place publique	47	place de jeu	77	bac à sable		
18	parc public	48	parc public	78	place publique		
19	place publique	49	place publique	79	place de jeu		
20	bac à sable	50	bac à sable	80	place publique		
21	bac à sable	51	place publique	81	bac à sable		
22	place de jeu	52	place publique	82	place publique		
23	place publique	53	bac à sable pour chien	83	bac à sable pour chien		
24	bac à sable pour chien	54	place publique	84	parc public		
25	bac à sable	55	place publique	85	parc public		
26	parc public	56	bac à sable	86	place publique		
27	place publique	57	place publique	87	bac à sable		
28	bac à sable pour chien	58	place publique	88	place de jeu		
29	bac à sable	59	bac à sable pour chien	89	place de jeu		
30	place de jeu	60	école	90	bac à sable		

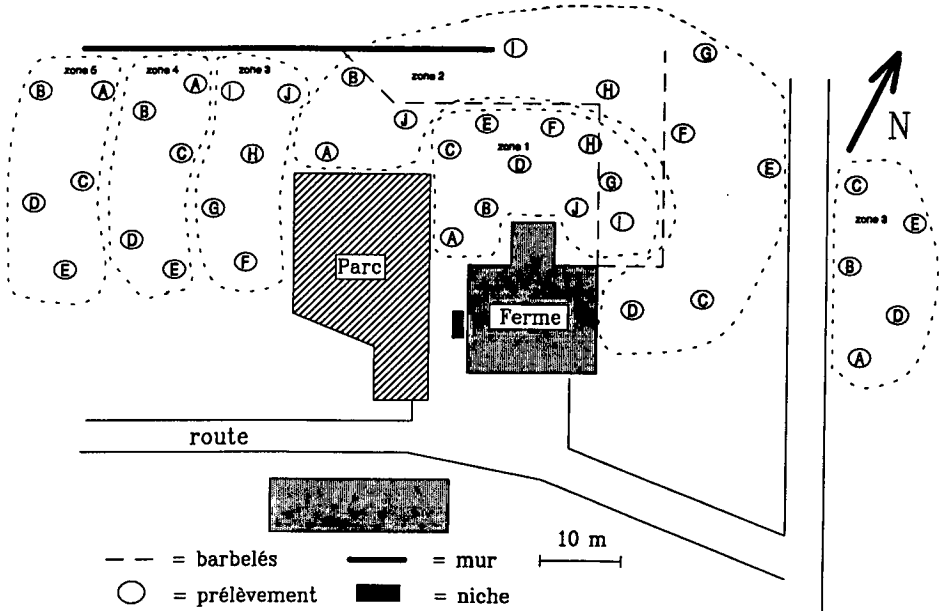
C) Prélèvements de sol à Couvet (1 carré = 1 Km²).

N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement
1	jardin public	16	école enfantine
2	bac à sable	17	bac à sable
3	pelouse	18	école enfantine
4	bac à sable	19	jardin public
5	place de jeu	20	parc public
6	bac à sable	21	parc public
7	place de jeu	22	parc public
8	parc public	23	parc public
9	bac à sable	24	parc public
10	pelouse	25	parc public
11	jardin public	26	bac à sable pour chien
12	jardin public	27	parc public
13	parc public	28	bac à sable pour chien
14	école enfantine	29	parc public
15	école enfantine	30	pelouse

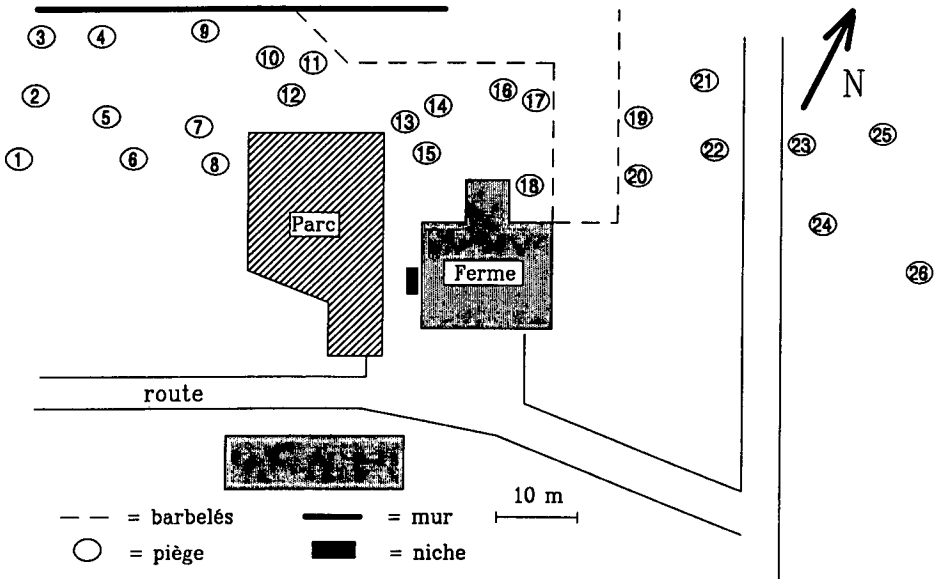
D) Prélèvements de sol aux Breuleux (1 carré = 1 Km²).

N°	Lieu de Prélèvement	N°	Lieu de Prélèvement
1	sous un arbre	16	bord de chemin
2	bord de chemin	17	bord de chemin
3	place de jeu	18	pied d'un mûr
4	bord de chemin	19	sous un arbre
5	sous un banc	20	pied d'un mûr
6	sous un arbre	21	bord de chemin
7	bord de chemin	22	sous un arbre
8	bord de chemin	23	pied d'un mûr
9	place de jeu	24	place de jeu
10	sous un banc	25	arrêt de bus
11	sous un arbre	26	pied d'un mûr
12	sous un banc	27	pied d'un mûr
13	pied d'un mûr	28	sous un banc
14	pied d'un mûr	29	bord de chemin
15	bord de chemin	30	bord de chemin

E) Prélèvements de sol autour de la ferme de "La Combe-à-la-Biche".



F) Localisation des pièges à campagnols aux alentours de la ferme de "La Combe-à-la-Biche".



ELISA IgG-SPECIFIQUE HUMAIN.

Les sérums humains sont testés selon la méthode décrite par De Savigny *et al.* (1979), modifiée pour la circonstance. Toutes les solutions et tampons sont décrits à la fin de l'annexe.

Production des antigènes ES de *T. canis*.

-Récotte d'oeufs de *T. canis*.

L'approvisionnement en oeufs s'est effectué de plusieurs manières:

- à partir de selles de chiens reconnus infestés par un contrôle coprologique au MIF.
- par récupération des femelles gravides de *T. canis* dans les selles de chiens après traitement vermifuge au Banminth Plus (R).
- par récupération de *T. canis* femelles gravides après dissection de chiots infectés expérimentalement (maison Ciba-Geigy, Saint-Aubin, Fribourg).

Les vers femelles sont placées dans un liquide physiologique (NaCl 0,85%), coupées en tranches d'environ 1 cm et hachées pendant quelques dizaines de secondes dans un mixer (Omni-Mixer Servall, AC-DC CY.50). Les oeufs sont ainsi libérés de l'utérus.

Le résidu du mixage ainsi que les selles de chiens sont traités selon la méthode mise au point par Wenger (Ciba-Geigy, com. pers.): Les deux fractions sont lavées à grandes eaux sur une succession de deux tamis superposés. Le premier ayant des pores de 125 µm et le second de 50 µm (ABS Prüf-Sieb Din 4188 38-600-05 et 38-600-11). Les oeufs, retenus sur le tamis de 50 µm, sont ensuite centrifugés pendant 3 min à 1000 g dans une solution saturée de glucose. Leur plus faible masse volumique les entraîne vers la surface. Le surnageant est rincé à l'eau sur le tamis de 50 µm.

La méthode d'isolement des oeufs par tamisage et centrifugation au glucose est très rapide et d'une bonne efficacité. Dans le cas des selles de chien, le mélange restant n'est pas exempt de déchets qui ne dérangent pas la suite des manipulations.

- Développement embryonnaire des oeufs.

Les oeufs sont déposés dans une boîte de Pétri en polystyrène de 20 cm de diamètre, immergés dans quelques ml de solution de H₂SO₄ 0,1 N et incubés entre 30 et 40 jours à l'étuve (22°C) en veillant à éviter la dessiccation. Après cette période, les larves sont mobiles à l'intérieur des oeufs. Une lampe, installée à l'intérieur de l'étuve, est allumée en permanence ce qui améliore le développement embryonnaire (Guillen-Liera *et al.*, 1986).

Le développement embryonnaire complet des oeufs est atteint dans près de 100% des cas pour les selles tamisées. Pour les dissections de femelles gravides, le rendement est moins bon (70-80%). Les oeufs, à l'intérieur de l'utérus des vers, ne sont sans doute pas tous fécondés.

- Dissolution de la coque des oeufs.

Les oeufs sont lavés trois fois à l'eau distillée par centrifugations successives et incubés sous agitation constante, 24 heures à température ambiante dans une solution 1:1 de NaOH 2% et NaClO 2%. Par ce traitement, les larves sont libérées de leur coque chitineuse et le milieu est stérilisé. A partir de cette étape, toutes les manipulations sont effectuées sous une hotte à flux laminaire vertical stérile. Les oeufs sont alors lavés dans un filtre de 100 ml (Nalgene No 1140, pores de 20 µm) en passant suffisamment d'eau distillée stérile afin de retirer entièrement le NaOH et le NaClO. Les oeufs, sans coquille, sont déposés dans des

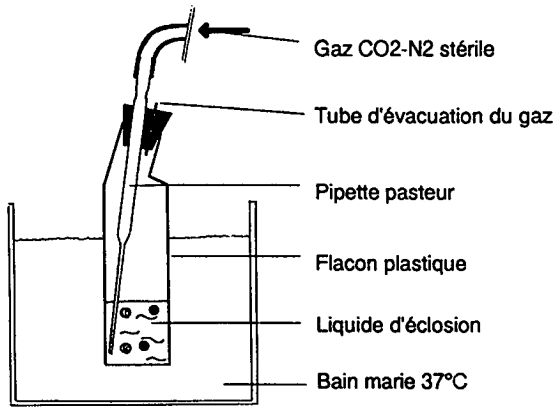


Fig. A. Dispositif d'éclosion des oeufs de *T. canis*.

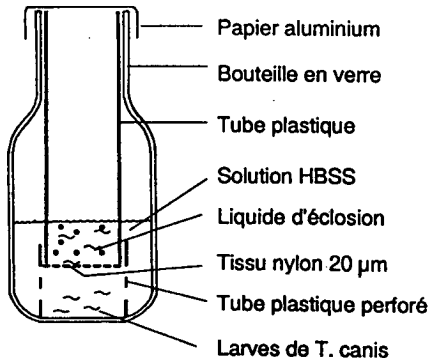


Fig. B. Appareil de type Baermann pour la séparation des larves vivantes à partir des déchets d'éclosion.

flacons de culture de 50 ml (Falcon 3013 F) stériles à raison d'environ 15 ml de solution d'oeufs par flacon.

- **Éclosion des oeufs (méthode modifiée de Fairbairn, 1961).**

Le dispositif d'éclosion est représenté dans la **figure A**. Les bouchons à vis des flacons de culture sont remplacés par des bouchons de caoutchouc percés d'une pipette pasteur, elle-même reliée par un tube plastique à une bouteille de gaz N₂-CO₂ (95%-5% respectivement). Le montage est stérilisé à l'autoclave et relié à la bouteille de gaz au travers d'un filtre stérile 0,2 µm (Nalgene No 2677).

Les flacons sont placés dans un bain marie à 37°C et gazés à une pression de 0,1 atmosphère pendant une heure.

La disparition de l'O₂, l'augmentation du CO₂ et de la température, l'alcalinisation du milieu déclenchent l'éclosion, les larves se libèrent de la membrane lipidique qui les entoure. La réussite du processus est vérifiée à l'aide d'un microscope inverse (Olympus CK2). Si le taux d'éclosion est jugé insuffisant, une rapide sonication du matériel de quelques secondes (Branson 220) l'améliore sensiblement.

Cette méthode permet d'obtenir un pourcentage d'éclosion des oeufs embryonnés supérieur à 90%. Les larves en culture restent vivantes durant plusieurs mois.

- **Isolation des larves par un Baermann.**

Afin d'isoler les larves vivantes des déchets, le résidu d'éclosion est placé dans un appareil Baermann stérile présenté dans la **figure B**. L'appareil est placé dans une étuve à 37°C pendant 3-4 heures. Les larves sont filtrées par passage actif au travers d'un tissu de nylon (NY-20-HD, Züricher Beuteltuchfabrik, Rüslikon, Schweiz) dont les mailles de 20 µm ne laissent passer que les individus mobiles. Le liquide au fond du Baermann est composé de HBSS (Hank Balanced Solution Salt) pH 7,4 (Gibco 041-040020 M).

- **Mise en culture des larves.**

Le liquide au fond de l'appareil Baermann est récupéré dans un flacon de 50 ml. Les larves sédimentant sont ensuite lavées 5 à 6 fois par aspiration du surnageant et adjonction de milieu de culture (HMEM Serva No 47365 A + NaHCO₃ 0,35 g/l pH 7,4 + pénicilline-G 150 U/ml et streptomycine 100 U/ml stérile). Les cultures sont réparties dans des flacons (Falcon 3013 F) qui reçoivent 10 ml de HMEM contenant environ 10'000 larves par ml. L'incubation se fait à 37°C dans une étuve à CO₂ (5%). Les bouchons ne sont pas vissés complètement afin de permettre les échanges gazeux.

- **Récolte des antigènes excrétés-sécrétés (ES).**

Tous les trois jours, le surnageant de culture est prélevé à l'aide d'une pipette de 10 ml stérile après sédimentation des larves et remplacé par du milieu frais.

Les surnageants sont rassemblés et congelés immédiatement à -20°C. Les cultures sont contrôlées au microscope inverse, celles qui contiennent plus de 10 % de larves immobiles sont rejetées.

- **Préparation de l'antigène.**

Le pool de surnageant de culture (environ 1 litre) est décongelé et passé sur une membrane filtrante de 0,2 µm afin de retenir les éventuelles larves mortes. Il est ensuite concentré, sous pression d'azote, sur une membrane Diaflo PM 10 dans une cellule AMICON (No 8050)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	(*1)	(*9)	F10)	F18)	F26)	F35)						
B	(*2)	(BK)	F11)	F19)	F27)	F36)						
C	(*3)	1/200)	F12)	F20)	F28)	F36)						
D	(*4)	1/400)	F13)	F21)	F29)	F38)						
E	(*5)	1/800)	F14)	F22)	F30)	F39)						
F	(*6)	1/1600)	F15)	F23)	F31)	F40)						
G	(*7)	1/3200)	F16)	F24)	F33)	F41)						
H	(*8)	Témoin)	F17)	F25)	F34)	F42)						

Fig. C. Disposition des sérums sur la plaque ELISA (*= sérums testés).

50 ml. Le surnageant est réduit à un volume d'environ 5 ml et lavé 3 à 4 fois avec du PBS 50 mM pH 7,4 contenant des inhibiteurs de protéases (PMSF et EDTA). Le liquide, de couleur rouge avant lavage, doit être incolore après traitement. Les protéines concentrées sont dialysées deux fois dans une membrane Spectrapor 23 mm (6-8'000) contre du PBS (50 mM pH 7,4 + inhibiteurs). Une première fois contre 1 litre durant quatre heures et une deuxième fois contre 5 litres durant une nuit.

La concentration en protéines de l'antigène est estimée par mesure au spectrophotomètre à 280 nm. La solution est diluée afin de contenir 100 µg/ml de protéines et congelée en aliquots de 100 µl à -80°C.

Test ELISA IgG-spécifique.

Les sérums sont testés selon une méthode ELISA modifiée de De Savigny *et al.* (1979). Les conditions optimales ont été déterminées par test croisé sur des dilutions successives d'antigène, d'un sérum témoin positif et des anticorps secondaires. Les temps d'incubation ont été choisis en fonction des données de la littérature pour permettre un maximum de précision tout en restant utilisable en routine (Voller *et al.*, 1979).

- Fixation de l'antigène.

L'antigène ES est dilué dans du tampon carbonate pH 9,6 à une concentration d'environ 0,5 µg/ml. Il est ensuite réparti à raison de 100 µl par puits de microplaques Immulon 96 cupules (Dynatech M 129-A) qui sont incubées dans une étuve à circulation d'air (réduction de l'effet de bord) 1 heure à 37°C.

- Lavages.

Trois lavages successifs sont effectués, dont un premier de quelques secondes et les deux autres de 5 min. Chaque cupule reçoit 200 µl de tampon phosphate de lavage (PBS-Tween) distribué à l'aide d'une multipipette ou d'un appareil (Dynatech Ultrawash II).

- Saturation des sites.

Afin d'éviter des fixations non spécifiques d'immunoglobulines sur la microplaque, les sites encore libres sont saturés d'albumine bovine par adjonction de 300 µl par puits de PBS-Tween-BSA 2% pendant une demi-heure à 37°C.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation des sérums.

Les sérums à tester sont dilués à 400 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposés dans deux cupules contiguës, à raison de 200 µl/cupule (**figure C**). En plus, deux puits sans sérum ne reçoivent que du PBS-Tween-BSA (blancs). Cinq dilutions successives d'un pool de positifs (1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200) sont également disposées en doublet et serviront à construire une courbe témoin "positive". Enfin, chaque microplaque reçoit un sérum nommé témoin-50 dilué 400 fois. La réactivité de cet échantillon est connue (50 unités) et il sert de moyen de contrôle de la constance du test. La disposition de ces échantillons est indiquée sur le schéma de la **figure C**. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C.

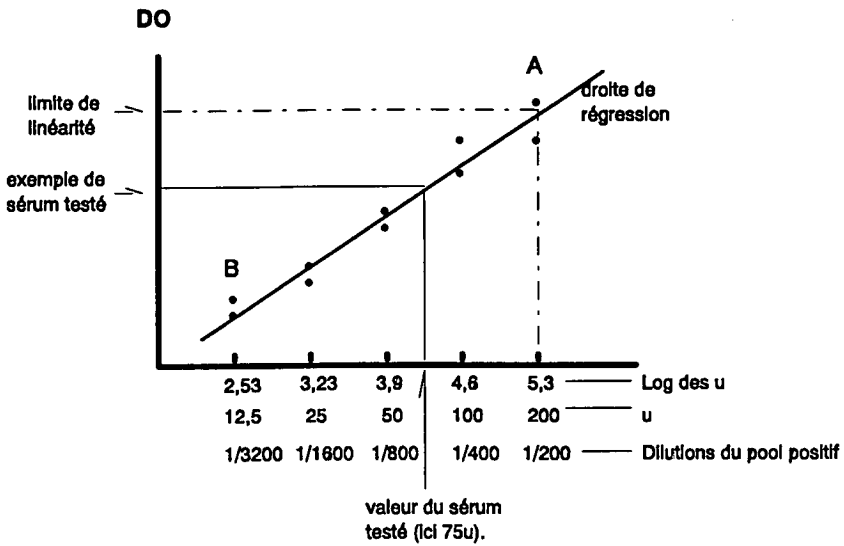


Fig. D. Droite de régression des absorbances (DO) du pool de sérums positifs selon 5 dilutions en valeurs logarithmiques. La DO du sérum à tester est reportée sur la droite de régression, le log. inverse de la valeur déduite donne directement les unités. La fonction n'est linéaire que du point A au point B; hors de ces limites, les résultats sont erronés ($u =$ unités).

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation des anticorps secondaires.

Les anticorps secondaires sont des IgG de chèvre anti-IgG humains, couplés à une phosphatase alcaline (KPL No 05-10-02 à 0,1 mg/ml). Ils sont dilués à 1/1'000 dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposés dans la microplaque à raison de 200 µl/cupule. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation du substrat.

Le para-nitrophényl-phosphate (Aldrich No 85,738-0) est dilué à 1 mg/ml dans un tampon diéthanolamine-HCl pH 9,8. Il est réparti à raison de 200 µl/cupule. L'incubation à 37°C dure entre 30-60 minutes selon la vitesse de la réaction.

- Arrêt de la réaction.

La réaction est arrêtée par adjonction de 50 µl/cupule de NaOH 3M. L'élévation du pH bloque l'activité enzymatique.

- Lecture de la réaction.

La lecture se fait à 405 nm par un Autoreader Dynatech de type MR 580. La valeur nulle est prise par rapport à l'air, le fichier des densités optiques lues est envoyé directement dans un ordinateur sous forme ASCII.

Calcul des unités.

Les variations intrinsèques d'un test tel que l'ELISA empêchent d'utiliser directement les densités optiques (DO) lues dans les cupules. Une approche mathématique apte à assurer une reproductibilité des valeurs malgré les variations journalières est employée. Différentes méthodes sont proposées dans la littérature, nous avons choisi d'utiliser la comparaison du sérum testé avec une courbe réalisée par dilutions d'un témoin positif.

Cette méthode, bien que relativement lourde, permet à la fois un contrôle du test (forme de la courbe, densités des points extrêmes) et une bonne reproductibilité d'un jour à l'autre.

Le pool de sérums positifs (témoin positif) est dilué à 1/200, 1/400, 1/800, 1/1'600 et 1/3'200. Les absorbances (DO) sont reportées en ordonnée sur un graphe (figure D) avec en abscisse, les logarithmes des dilutions exprimés en unités (u). Par convention, la dilution de 1/200 correspond à 200 u. Le titre en unités des sérums testés est déterminé à l'aide de la droite de régression ainsi définie.

Dans la pratique, le fichier des densités optiques est transféré directement de l'Autoreader dans un ordinateur de type IBM et repris par le logiciel décrit à la fin de l'annexe. Le numéro de chaque sérum est entré dans un fichier parallèle, un algorithme calcule la droite de régression, le coefficient de corrélation et les unités de chaque sérum. Il est possible de ne pas faire intervenir

Moyenne +	Spécificité mathématique	Limite	Nb. positifs	
			1 SD	84%
2 SD	97,5%	78,5 u	393	6,4%
2,6 SD	99,5%	116 u	238	3,9%

Tab. A. Limite de positivité des sérums d'adultes en fonction des écarts-types (SD) (6100 analyses).

Moyenne +	Spécificité mathématique	Limite	Nb. positifs	
			1 SD	84%
2 SD	97,5%	44 u	24	4,8%
2,6 SD	99,5%	58,8 u	16	3,2%

Tab. B. Limite de positivité des sérums d'enfants en fonction des écarts-types (SD). (501 analyses).

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6	Moyenne	Ecart- type	cv
Sérum 1	5	6	5	9	4	8	6,2	1,9	30%
Sérum 2	5	6	5	9	4	8	6,2	1,9	30%
Sérum 3	20	16	15	24	12	21	18	4,4	24%
Sérum 4	27	20	21	35	18	27	24,6	6,3	25%
Sérum 5	59	42	42	59	49	55	51	7,9	15%
Sérum 6	72	65	68	75	72	70	68,6	4,7	7%
Sérum 7	98	82	80	103	85	76	87,3	10,7	12%
Sérum 8	120	101	110	132	115	95	112,2	13,3	12%
Sérum 9	190	163	184	202	193	156	181,3	18	10%
Sérum 10	250	185	210	277	204	172	216,3	39,9	18%

Tab. C. Reproductibilité de la méthode. Résultats de 10 sérums testés pendant 6 jours consécutifs (cv = Coefficient de variation du test).

dans le calcul de la droite, des valeurs du témoin positif manifestement fausses (doublets trop éloignés).

Les résultats sont envoyés sur une imprimante ou dans un fichier de type ASCII récupérable directement dans un logiciel de traitement statistique.

Les sérums sont toujours testés à double, nous ne tenons compte que des résultats des doublets qui s'écartent de moins de 10%.

Pour être pris en compte, les microplaques doivent satisfaire à trois exigences: le coefficient de corrélation de la droite témoin doit être supérieur à 99%, le blanc (puits sans sérum) ne doit pas dépasser 20u et le sérum témoin-50 doit se situer entre 50 et 70 unités.

Fixation du seuil.

Le seuil de positivité de notre test a été fixé différemment chez les adultes que chez les enfants, car ces derniers ont généralement montré des DO inférieures. Six mille cents sérums d'adultes sains ont été testés en ELISA ES, les nombres de positifs sont indiqués en fonction des seuils de positivité (tableau A). La limite de séropositivité est choisie à 80 unités (qui équivaut environ à la moyenne plus 2SD) avec une zone douteuse entre 50 et 79 u (moyenne plus 1,3 à 2SD). La zone douteuse permet de tenir compte des variations journalières (voir ci-dessous). Dans le cas des enfants, 501 sérums ont été testés (tableau B). La limite de séropositivité est fixée au seuil unique de 50 unités qui correspond à la moyenne plus 2,24 SD.

Les seuils sont donc fixés en unités à:

Adultes:	négatifs	0- 49
	douteux	50- 79
	positifs	>= 80
Enfants:	négatifs	0- 49
	positifs	>= 50

Tests de reproductibilité.

La reproductibilité d'un test est donnée par le coefficient de variation (cv) qui correspond au rapport de l'écart-type sur la moyenne entre les différents essais. Il a été calculé sur une même microplaque pour évaluer la variation interne (intravariabilité). Pour évaluer les variations journalières, il a également été calculé par test des mêmes sérums pendant plusieurs jours consécutifs (intervariabilité).

Un test d'une microplaque composée uniquement de "blancs" (puits sans sérums) a été effectué. Les DO se répartissent entre 0,103 et 0,208 avec une moyenne de $0,115 \pm 0,014$. Le cv est de 12%. Un second essai a été fait avec une microplaque sur laquelle un seul sérum positif a été déposé dans toutes les cupules. Les DO se répartissent de 0,603 à 0,696 avec une moyenne de $0,645 \pm 0,031$. Le cv est de 5%.

Pour évaluer l'intervariabilité de la méthode, dix sérums ont été testés quotidiennement pendant 6 jours consécutifs (tableau C). Les cv varient entre 7 et 30%. Entre 50 et 80 u, le cv varie de 7 à 15%. Pour les résultats supérieurs à 200 unités, nous approchons de la limite de linéarité de la courbe de référence et le test n'est plus reproductible.

	ELISA IgG >= 80u	ELISA IgG < 80u	Total
Malades	4769 (VP)	1530 (FN)	6300
Indemnes	2812 (FP)	90889 (VN)	93700
Total	7581	92419	100000

Tab. D. Distribution, en fonction de la séroprévalence (6,3%), d'une population théorique de 100'000 personnes en 2 groupes: malades et indemnes. La différence entre séropositifs et séronégatifs est faite selon les sensibilité et spécificité du test ELISA IgG (VP = vrais positifs; FP = faux positifs; FN = faux négatifs; VN = faux positifs).

Patients atteints de toxocarose.

Au total, 37 sérums de patients souffrant de toxocarose cliniquement prouvée ont été testés en ELISA IgG. Le titre moyen est de 292 unités. Cinq sérums (13,5%) n'ont montré aucun titre d'anticorps spécifiques anti-*T. canis*, 4 (10,8%) sont douteux (entre 50 et 80 u) et enfin, 28 échantillons (75,7%) sont positifs.

Provenance des sérums:

Diagnostic Parasitaire, Neuchâtel :	3
Dr. Magnaval, Toulouse :	13
Dr. Liance, Créteil :	4
Dr. Riera, Barcelone :	2
Dr. Weiss, Bâle :	15

Estimation de la valeur du test.

La qualité d'un test sérologique est donnée par sa sensibilité, sa spécificité, ses valeurs de prédiction d'un résultat positif ou négatif et son efficacité (Galen et Gambino, 1975). Pour calculer ces valeurs, il est essentiel de connaître la prévalence de la maladie. Il s'agit ensuite de déterminer le nombre de séropositifs dans une population ayant eu un contact avec le parasite ainsi que le nombre de séronégatifs dans une population n'ayant jamais eu de contact avec le parasite. Pour la toxocarose, cette démarche ne peut malheureusement pas être suivie car une infection par *T. canis* n'est souvent pas confirmable par une méthode directe.

Nous avons tout de même estimé ces données, qui n'ont ici qu'une valeur indicative, en considérant les donneurs de sang comme une population de négatifs et les patients atteints de toxocarose clinique comme une population de positifs. Seul le seuil de 80 u a été pris en compte.

- Sensibilité.

La sensibilité du test correspond au pourcentage de séropositifs dans une population de personnes ayant eu un contact avec le parasite. Sur 37 patients atteints de toxocarose, 28 sont positifs en ELISA IgG. La sensibilité est donc de 75,7%.

- Spécificité.

La spécificité du test correspond au pourcentage de séronégatifs dans une population de personnes n'ayant pas eu de contact avec le parasite. Sur 6100 donneurs de sang (théoriquement sains), 5710 sont négatifs en ELISA IgG (voir chapitre 4.1.1.4.). La spécificité est donc de 97%.

- Valeurs de prédiction d'un résultat.

Les valeurs de prédiction d'un résultat tiennent compte de la prévalence de la maladie. Ne connaissant pas cette valeur pour la toxocarose, nous avons tenu compte de la séroprévalence. Nous avons fractionné une population théorique de 100'000 personnes en fonction de la séroprévalence, de la sensibilité et de la spécificité du test (tableau D). Nous pouvons donc calculer les valeurs suivantes:

Maladie	Nombre de sérums	ELISA positif			
		limite à 50u	Limite à 80u		
Trichinose	49	9	18%	2	4%
Bilharzioses	26	2	8%	1	4%
Fasciolose	19	2	10%	1	5%
Echinococcoses	16	3	19%	1	6%
Anguillulose	7	0	0%	0	0%
Filarioses	6	0	0%	0	0%
Amibiase	4	0	0%	0	0%
Ascarirose	3	1	33%	0	0%
Trichocéphalose	2	0	0%	0	0%
Hymenolépiose	2	0	0%	0	0%
Ancylostomose	2	0	0%	0	0%
Taeniase	1	0	0%	0	0%
Strongyloïdose	1	0	0%	0	0%

Tab. E. Résultats des tests effectués sur les sérums de patients atteints d'autres maladies (réactions croisées).

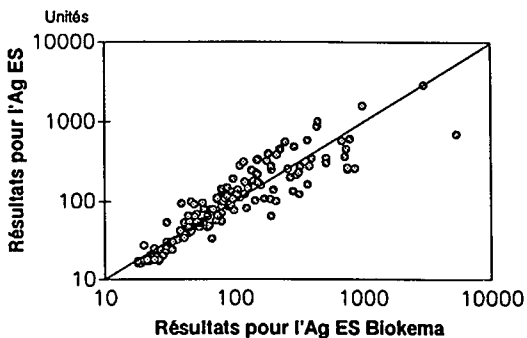


Fig. E. Comparaison de notre antigène ES avec un antigène ES commercialisé (coefficient de corrélation de 92%).

La valeur de prédiction d'un résultat positif est égale au quotient du nombre de vrais positifs sur le total des positifs en ELISA IgG. Elle est de 62% (4'769 / 7'581).

La valeur de prédiction d'un résultat négatif est égale au quotient du nombre de vrais négatifs sur le total des négatifs en ELISA IgG. Elle est de 98% (90'889 / 62'419).

- Efficacité du test.

Elle est donnée par le quotient de l'addition des vrais positifs et des vrais négatifs sur la population totale. Dans notre cas, elle est de 92% (4'769 + 90'419 / 100'000).

Patients atteints d'autres parasitoses.

Afin de préciser la spécificité de notre ELISA, nous avons testé des sérums de patients atteints d'autres maladies parasitaires. Les sérums proviennent de la sérothèque du Diagnostic Parasitaire de Neuchâtel, des laboratoires français de Lille et de Créteil. Il s'agit en général de patients dont le diagnostic sérologique est confirmé par un diagnostic direct. Nous ne pouvons toutefois exclure une infection à *T. canis* parallèle à la maladie déclarée, la toxocarose n'étant pas confirmable par diagnostic direct.

Des réactions croisées sont quelquefois observées dans la trichinose, les fascioloses, les bilharzioses et les échinococcoses (tableau E). Au seuil de 80 u, seuls 4 à 6% des patients atteints de ces parasitoses réagissent dans le test.

Test de comparaison avec un antigène ES commercial.

Afin d'estimer la valeur de notre antigène ES de *T. canis*, nous l'avons comparé en ELISA avec un antigène ES commercial (Affinity Products, Crissier). Cent cinquante-quatre sérums ont été testés en parallèle sur les deux antigènes. Ces échantillons couvraient toute l'amplitude de réactivité, de négatif à très positif. Les résultats, comparés deux à deux, sont représentés sur la figure E. Le coefficient de corrélation est de 0,92. Entre 50 et 100 unités, l'antigène commercial semble réagir moins fortement que le nôtre. En dessus de 200 unités, la limite de linéarité du test est atteinte, les points s'écartent de la droite théorique de régression. L'utilisation des deux antigènes dans le test ELISA donne des résultats comparables.

Solutions et tampons

- 1)
- Tampon de dialyse
- : PBS (50mM) + inhibiteurs

NaH ₂ PO ₄ * H ₂ O	1,38 g
K ₂ HPO ₄	6,95 g
NaCl	7,0 g

compléter à 1 l avec H₂O dist., ajuster le pH à 7,4 et ajouter:

- 5 ml PMSF (10mg/ml dans isopropanol)

- 5 ml EDTA (200mM à pH 7,5)

- 2)
- Tampon de sensibilisation
- : Tampon carbonate (50mM)

Na ₂ CO ₃	1,59 g
NaHCO ₃	2,93 g

compléter à 1 l avec H₂O dist., ajuster le pH à 9,6.

- 3)
- Tampon de lavage
- : PBS-Tween (10mM)

NaCl	8,0 g
KCl	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
Na ₂ HPO ₄	1,15 g

compléter à 1 l avec H₂O dist., ajuster le pH à 7,4 et ajouter 500 µl Tween-20 (Merk N° 822184).

- 4)
- Tampon de saturation
- : PBS-Tween-BSA 2%

ajouter 2% de BSA (Bovine Serum Albumine, Sigma N°A-7030) au PBS de lavage.

- 5)
- Tampon de dilution des sérums et coniugué
- : PBS-Tween-BSA 1%

ajouter 1% de BSA au PBS de lavage.

- 6)
- Solution de substrat
- : tampon diéthanolamine - para-nitrophényl-phosphate.

Diéthanolamine	19,4 ml
MgSO ₄ * 6 H ₂ O	20 mg
NaN ₃	40 mg

ajouter environ 160 ml H₂O dist., ajuster le pH à 9,8 avec HCl 0,1 N. Ajouter de l'eau dist. jusqu'à 200 ml.

ajouter le substrat pNPP (Aldrich N° 85 785-0) à raison de 1 mg/ml.

PROGRAMME DE TRAITEMENT DES DO PAR ORDINATEUR.

Le programme, écrit en Turbo Pascal version 3.0, permet le calcul des unités à partir d'un fichier ASCII contenant les DO des sérums lues par l'Autoreader (Dynatech type MR 580).

Le fichier ASCII possède une extension ".txt" et se présente sous la forme suivante:

```

MICROELISA
1 A 0.055
1 B 0.278
1 C 0.105
1 D 0.056
1 E 0.085
1 F 0.115
1 G 0.082
1 H 0.067

2 A 0.055
2 B 0.267
2 C 0.116

11 F 0.333
11 G 0.285
11 H 0.066

12 A 0.125
12 B 0.067
12 C 0.054
12 D 0.072
12 E 0.054
12 F 0.351
12 G 0.272
12 H 0.072

THRSHLD= 1.51
CAL= 1.00
DATE: _____
OPER: _____
NOTES: _____
_____
_____

```

Le programme se déroule en deux parties:

- 1) Il s'agit tout d'abord de faire correspondre un fichier ".plq" contenant les numéros des sérums testés aux densités optiques correspondantes du fichier ".txt". Pour cela, le choix "Entrer les sera ==> 1." de la procédure "Menu" dessine une microplaque à l'écran (procédure "Trame") et permet d'entrer le numéro de chaque sérum à l'endroit où il a été déposé par la procédure "Entree_des_sera". Le fichier ".plq" est sauvé sur le disque.
- 2) Le choix " Calcul des unités ==> 2." de la procédure "Menu" charge les fichiers ".txt" et ".plq" choisis en mémoire (procédures "Mise_a_zero" et "Litfichier"), calcule, pour chaque sérum, la moyenne des deux cupules (procédure "Calcul_moyenne") et l'écart à la moyenne (procédure "Delta_moyenne").

La procédure "Choix_courbe" permet d'éliminer certaines dilutions du sérum témoin positif visiblement trop éloignées de la droite de régression et capables d'interférer négativement. La procédure "Calcul_dil_unit" calcule ensuite les unités pour chaque sérum.

La procédure "Presentation" affiche le résultat à l'écran avec: les numéros des sérums, les deux DO, la moyenne, l'écart à la moyenne en pourcents, la dilution du positif correspondant et les unités. En plus, la droite de régression ainsi que son coefficient de corrélation est indiquée. La procédure "Impression" envoie ces indications sur l'imprimante et la procédure "Sauvegarde" sauve les numéros des sérums et les unités correspondantes dans un fichier ASCII aisément utilisable par un autre logiciel.

```

PROGRAM tomov (Input,Output) ;
('S*)

VAR
vert1 : Text ;
plaque : file of STRING(6) ;
tab1 : string (6) ;
tab2 : PACKED ARRAY [1..48] OF STRING (6) ;
tab3 : PACKED ARRAY [1..48,1..6] OF Real ;
tab4 : PACKED ARRAY [11..15,1..4] OF Real ;
stand : PACKED ARRAY [11..15] OF Real ;
present : String(5) ;
sauv1,sauv2,sauv3: String(7) ;
chdir : CHAR ;
numero : String(2) ;
ind1,ind2,ind3 : Integer ;
cont1,cont2,cont3,n : Integer ;
pente,inter,coeff,valeur : Real ;
nom_fichier,nom_plaque,nom_sauveg : String (20) ;
bidon : String(21) ;
exy , ex2, ex, ey, ey2 : Real ;

PROCEDURE Trame ;
BEGIN
dscr ;
WriteIn WriteIn ;
WriteIn WriteIn ;
WriteIn WriteIn ;
('----- ecrite les colonnes 1 à 12 -----')
ind2 := 0 ;
Write(') ;
For ind2 := 1 to 12 DO
Write ind2:6 ;
WriteIn ;
Write (') ;
FOR ind2 := 1 to 73 DO
Write(CHR(196)) ;
WriteIn ;
('----- ligne 9 à 8 = A à H -----')
ind3 := 0 ;
ind2 := 1 ;
While ind3 < 8 DO
BEGIN
ind3 := ind3 + 1 ;
ind2 := ind2 + 5 ;
Write(CHR(ind3 + 65), ',CHR(179), ',CHR(179)) ;
FOR ind := 1 to 5 DO
BEGIN
FOR ind4 := 1 to 2 DO
Write(' ',CHR(179)) ;
END ;
Write(' ',CHR(179)) ;
WriteIn ;
Write(') ;
FOR ind := 1 to 73 DO
Write(CHR(196)) ;
WriteIn ;
END ;
END ;

PROCEDURE Entree_des_sera ;
BEGIN
chdir := ' ' ;
ind := 8 ;
ind2 := 11 ;
cont1 := 0 ;
cont2 := 0 ;
Assign (plaque,nom_plaque) ;
GOTOXY (ind,0) ;
Write(' Nom du fichier : ',nom_plaque) ;
('----- disposition verticale -----')
ind3 := 6 ;
ind4 := 5 ;
FOR ind := 1 to 8 DO
BEGIN
ind4 := ind4 + 2 ;
GOTOXY (ind3,ind4) ;
Write(valeur:5:0) ;
cont1 := cont1 + 1 ;
GOTOXY (ind3,ind4) ;
Readln(tab3cont1) ;
IF tab3cont1 = '-' THEN
STR(valeur:5:0,tab2(cont1))
ELSE
Val(tab2(cont1),valeur,n) ;
valeur := valeur + 1 ;
GOTOXY (ind3,ind4) ;
Write(') ;
GOTOXY (ind3,ind4) ;
Write(tab3cont1) ;
Write(tab3cont1:4:5:0) ;
GOTOXY (ind3 + 6,ind4) ;
Write(tab2(cont1) ;
END ;
cont1 := cont1 + 1 ;
GOTOXY (17,8) ;
Readln(tab2cont1) ;
GOTOXY (17,8) ;
Write(tab2cont1) ;
GOTOXY (23,8) ;
Write(tab2cont1) ;
tab2(9) := ' BK' ;
tab2(11) := ' 200' ;
tab2(12) := ' 400' ;
tab2(13) := ' 800' ;
tab2(14) := ' 1600' ;
tab2(15) := ' 3200' ;
tab2(16) := ' 111' ;
cont1 := cont1 + 7 ;
cont2 := 29 ;
ind2 := 6 ;
FOR ind4 := 1 TO 4 DO
BEGIN ;
FOR ind := 1 TO 8 DO
BEGIN ;
ind2 := ind2 + 2 ;
cont1 := cont1 + 1 ;
GOTOXY (cont2,ind2) ;
Write(valeur:5:0) ;
GOTOXY (cont2,ind2) ;
Readln(tab2cont1) ;
IF tab2cont1 = '-' THEN
STR(valeur:5:0,tab2(cont1))
ELSE
Val(tab2(cont1),valeur,n) ;
valeur := valeur + 1 ;
GOTOXY (cont2,ind2) ;
Write (') ;
GOTOXY (cont2,ind2) ;
Write(tab2cont1) ;
GOTOXY (cont2 + 6,ind2) ;
Write(tab2cont1) ;
END ;
cont2 := cont2 + 12 ;
ind2 := 6 ;
END ;
Rewrite (plaque) ;
FOR cont1 := 1 to 48 DO
BEGIN
sauv3 := tab2(cont1) + ' ' ;
writeIn (sauv3) ;
Write (plaque,tab2(cont1)) ;
END ;
dose (plaque) ;
END ;

PROCEDURE Mise_a_zero ;
BEGIN
ind := 0 ;
While ind < 48 DO
BEGIN
ind := ind + 1 ;
tab2(ind) := ' ' ;
FOR ind2 := 1 to 6 DO
tab3(ind,ind2) := 0.000
END ;
dscr ;
END ;

PROCEDURE Presentation ;
BEGIN
cont1 := 0 ;
ind := 0 ;
While ind < 48 DO
BEGIN
dscr ;
WriteIn(' FICHIER : ',nom_fichier) ;
WriteIn ;
WriteIn ('Droite : Y = (pente:2.3 * X) + :inter:2.3) ;
WriteIn ('Coefficient : C = ',coeff:1.3) ;
WriteIn ;
WriteIn ('Num Serum DO1 DO2 Moy Ecart %') ;
WriteIn ('Di Unites') ;
FOR cont1 := 1 to 48 DO
BEGIN
ind := ind + 1 ;
Write(cont1:2) ;
Write(tab2(cont1):6) ;
FOR ind2 := 1 to 2 DO
Write(tab3(cont1,ind2):9:3) ;
Write(tab3(cont1):3:9:3) ;
Write(tab3(cont1):5:9:3) ;
Write(tab3(cont1):4:5:0) ;
WriteIn ;
FOR cont1 := 1 TO 7 DO
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;
FOR cont1 := 1 TO 2 DO
WriteIn(LST) ;
FOR cont1 := 11 TO 15 DO
BEGIN
Write(LST,tab2cont1:6) ;
Write(LST,tab2cont1:11:9:3) ;
Write(LST,tab2cont1:12:9:3) ;
Write(LST,tab4:1:5:0) ;
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;
FOR cont1 := 1 TO 2 DO
WriteIn(LST) ;
FOR cont1 := 11 TO 15 DO
BEGIN
Write(LST,tab2cont1:6) ;
Write(LST,tab2cont1:11:9:3) ;
Write(LST,tab2cont1:12:9:3) ;
Write(LST,tab4:1:5:0) ;
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;

PROCEDURE Sauvegarde ;
BEGIN
GOTOXY(11,12) ;
Write(' Voulez-vous sauver ce fichier (oh) ==> ?) ;
Readln(chdir) ;
IF chdir = 'y' THEN
BEGIN
Write(' Entrer le numero de la plaque ==> ?) ;
Readln(numero) ;
Assign (vard,nom_sauveg) ;
Rewrite (vard) ;
bidon := ' ' ;
WriteIn (vard,bidon) ;
FOR cont1 := 1 TO 9 DO
BEGIN
strtab3cont1(6:5:0,sauv1) ;
strtab3cont1(4:5:0,sauv2) ;
sauv1 := sauvi + ' ' ;
sauv2 := sauvi2 + ' ' ;
sauv3 := tab2(cont1) + ' ' ;
bidon := numero+sauv3+sauv1+sauv2 ;
WriteIn (vard,bidon) ;
END ;
FOR cont1 := 17 TO 48 DO
BEGIN
strtab3cont1(6:5:0,sauv1) ;
strtab3cont1(4:5:0,sauv2) ;
sauv1 := sauvi + ' ' ;
sauv2 := sauvi2 + ' ' ;
sauv3 := tab2(cont1) ;
bidon := numero+sauv3+sauv1+sauv2 ;
WriteIn (bidon) ;
END ;
END ;
END ;
WriteIn('tab3cont1:6:0) ;
WriteIn ;
IF cont1 = 16 THEN Readln(chdir) ;
END ;
Readln (chdir) ;
END ;
END ;

PROCEDURE Impression ;
BEGIN
dscr ;
Write(' Voulez-vous imprimer ce fichier (oh) ==> ?) ;
Readln(chdir) ;
IF chdir = 'y' THEN
BEGIN
cont1 := 0 ;
ind := 0 ;
WriteIn(LST) ;
Write ind < 48 DO
BEGIN
WriteIn (LST) ;
WriteIn(LST, ' FICHIER : ',nom_fichier) ;
WriteIn(LST, 'Droite : Y = (pente:2.3 * X) + :inter:2.3) ;
ind := 0 ;
WriteIn(LST, 'Coefficient : C = ',coeff:1.3) ;
WriteIn(LST) ;
WriteIn(LST, 'Num Serum DO1 DO2 Moy Ecart %') ;
WriteIn(LST, 'Di Unites') ;
FOR cont1 := 1 to 48 DO
BEGIN
ind := ind + 1 ;
Write(LST,cont1:2) ;
Write(LST,tab2(cont1):6) ;
FOR ind2 := 1 to 2 DO
Write(LST,tab3(cont1,ind2):9:3) ;
Write(LST,tab3(cont1):3:9:3) ;
Write(LST,tab3(cont1):5:9:3) ;
Write(LST,tab3(cont1):4:5:0) ;
WriteIn(LST) ;
FOR cont1 := 1 TO 7 DO
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;
FOR cont1 := 1 TO 2 DO
WriteIn(LST) ;
FOR cont1 := 11 TO 15 DO
BEGIN
Write(LST,tab2cont1:6) ;
Write(LST,tab2cont1:11:9:3) ;
Write(LST,tab2cont1:12:9:3) ;
Write(LST,tab4:1:5:0) ;
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;
FOR cont1 := 1 TO 2 DO
WriteIn(LST) ;
FOR cont1 := 11 TO 15 DO
BEGIN
Write(LST,tab2cont1:6) ;
Write(LST,tab2cont1:11:9:3) ;
Write(LST,tab2cont1:12:9:3) ;
Write(LST,tab4:1:5:0) ;
WriteIn(LST) ;
END ;
END ;
END ;
END ;

```


ELISA IgE-TOTAUX HUMAIN.

Pour évaluer la quantité d'IgE présente dans un sérum, nous avons choisi d'utiliser un test ELISA sandwich (Voller *et al.*, 1979). Cette méthode est très sensible et permet la détection de quelques nanogrammes de l'immunoglobuline. L'ELISA sandwich IgE consiste à fixer au fond d'une microplaque des immunoglobulines de chèvre spécifiquement dirigés contre les IgE humains puis de faire réagir le sérum à évaluer. Les IgE vont être captées sur la microplaque et seront révélées à l'aide d'un conjugué anti-IgE humain couplé à un enzyme. L'application d'un substrat se colorant au contact de l'enzyme permet de mesurer la réaction.

Les solutions et tampons utilisés sont décrits dans l'annexe III. Les différentes étapes de la réaction sont les suivantes:

- Fixation de l'anti-IgE:

L'anti-IgE humain de chèvre (KPL N° 01-10-04) est dilué dans du tampon carbonate pH 9,6 à une concentration de 5µg/ml et réparti à raison de 200 µl par puits dans des microplaques Immulon 96 cupules (Dynatech M 129-A). Une incubation est ensuite effectuée à 37°C dans une étuve à circulation d'air pendant 1 heure.

- Lavages:

Trois lavages successifs sont effectués, le premier de quelques secondes et les deux autres de 5 min. Chaque cupule reçoit 200 µl de tampon phosphate de lavage (PBS-Tween) distribué à l'aide d'une multipipette ou d'un appareil (Dynatech Ultrawash II).

- Incubation des sérums:

Les sérums à tester sont dilués 10 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposés dans 2 cupules contiguës à raison de 200 µl par cupule. Sur chaque plaque, 5 dilutions successives d'un sérum positif sont également disposées. La valeur en unités internationales (UI) de cet échantillon est connue, car elle a été calibrée dans un test identique par rapport à un témoin du commerce (Biomérieux, IgE-TROL). Les dilutions correspondent à 100 UI, 50 UI, 25 UI, 12,5 UI et 2,5 UI. Deux cupules remplies uniquement de tampon constituent un contrôle (blancs). L'incubation se fait pendant 1 heure et demie à 37°C.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation des anticorps secondaires:

Les anticorps secondaires sont des anti-IgE de chèvre couplés à une phosphatase alcaline (KPL N° 05-10-04 à 0,1 mg/ml). Ils sont dilués à 1/2000 dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposés dans la microplaque à raison de 200 µl/cupule. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation du substrat:

Le para-nitrophényl-phosphate (Aldrich N° 85,738-0) est dilué à raison de 1 mg/ml dans un tampon diéthanolamine-HCl pH 9,8 et réparti à raison de 200 µl/cupule. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C .

- Arrêt de la réaction:

La réaction est arrêtée par adjonction de 50 μ l/cupule d'une solution 3M de NaOH.

- Lecture de la réaction:

La lecture de la microplaque se fait à 405 nm à l'aide d'un appareil Autoreader Dynatech de type MR 580. La mise à zéro de l'appareil est effectuée par rapport aux blancs.

Les résultats sont donnés par report, sur un graphe, des densités optiques (DO) des sérums testés sur la droite établie grâce aux dilutions du témoin positif. Pour obtenir les résultats en unités internationales (UI), il suffit de multiplier dix fois les unités ainsi déduites (les sérums étant dilués 10 fois). Une UI correspond à environ 2 ng d'IgE.

ELISA IgE-SPECIFIQUES HUMAIN.

Pour doser les anticorps IgE spécifiquement dirigés contre les antigènes de *T. canis*, nous avons choisi d'utiliser la technique de l'ELISA double-sandwich qui présente l'avantage d'être très sensible (Voller *et al.*, 1979).

Les immunoglobulines anti-IgE humains sont fixées à la microplaque et captent les IgE des sérums à tester. Cette étape permet d'éliminer le masquage des IgE par les fortes concentrations d'IgG sériques décrit par Genchi *et al.* (1988). Il s'agit ensuite de faire réagir l'antigène ES de *T. canis* qui se fixe sur les IgE-spécifiques puis de faire réagir un sérum de lapin immunisé contre ce même antigène ES. La réaction est ensuite révélée par incubation d'un conjugué anti-IgG de lapin couplé à une phosphatase alcaline et d'un substrat coloré.

Les solutions et tampons sont décrits dans l'**annexe III**. Les différentes étapes de la réaction sont les suivantes:

- Fixation de l'anti-IgE:

L'anti-IgE humain de chèvre (KPL N° 01-10-04) est dilué dans du tampon carbonate pH 9,6 à une concentration de 5 μ g/ml, il est réparti à raison de 200 μ l par puits dans des microplaques Immulon 96 cupules (Dynatech M 129-A). Une incubation à 37°C est réalisée dans une étuve à circulation d'air pendant 1 heure.

- Lavages:

Trois lavages successifs sont effectués, le premier de quelques secondes et les deux autres de 5 min. Chaque cupule reçoit 200 μ l de tampon phosphate de lavage (PBS-Tween) distribué à l'aide d'une multipipette ou d'un appareil (Dynatech Ultrawash II).

- Incubation des sérums:

Les sérums à tester sont dilués 10 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposés dans 2 cupules contiguës à raison de 200 μ l par cupule. Sur chaque plaque, un sérum positif est également déposé. Deux cupules remplies uniquement de tampon constituent un contrôle (blancs). L'incubation se fait pendant 1 heure et demie à 37°C.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation de l'antigène:

L'antigène ES de *T. canis* (voir l'**annexe III**) est dilué 500 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et déposé à raison de 200 μ l/cupule. L'incubation se fait à 37°C pendant 1 heure.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation du sérum de lapin:

Deux lapins (New Zealand) sont immunisés par deux injections intrapéritonéale de 1000 oeufs infectieux de *T. canis* à une semaine d'intervalle. Leurs sérums sont réunis en un pool qui est dilué 500 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et disposé à raison de 200 μ l/cupule dans toute la microplaque. L'incubation se fait à 37°C pendant 1 heure.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation des anticorps secondaires:

Les anticorps secondaires sont des anti-IgE de chèvre dirigés contre les IgG de lapin, couplés à une phosphatase alcaline (KPL N° 05-15-06 à 0,1 mg/ml). Ils sont dilués à 1/1000 dans du PBS-Tween-BSA 1% et déposés dans la microplaque à raison de 200 µg/ml. L'incubation se fait à 37°C pendant 1 heure.

- Lavages identiques aux précédents.

- Incubation du substrat:

Le para-nitrophényl-phosphate (Aldrich N° 85,738-0) est dilué à raison de 1 mg/ml dans un tampon diéthanolamine-HCL pH 9,8 et réparti à raison de 200 µl/cupule. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C .

- Arrêt de la réaction:

La réaction est arrêtée par adjonction de 50 µl/cupule de NaOH 3M.

- Lecture de la réaction:

La lecture des densités optiques (DO) se fait à 405 nm dans un appareil Autoreader Dynatech de type MR 580.

Contrairement aux test IgE-totaux, nous n'avons pas mis au point de méthode qui permette une quantification exacte des IgE-spécifiques. L'établissement d'une courbe témoin est laborieux et d'utilité toute relative. Aussi, afin de donner des valeurs permettant des comparaisons entre les sérums, nous avons choisi d'exprimer les résultats en calculant le coefficient de Zahner (Zahner *et al.*, 1981). L'index est calculé pour chaque sérum, il tient compte des valeurs de témoins positifs et négatifs. Il s'agit du rapport suivant:

$$\text{Index de Zahner} = \frac{\text{DO(sérum inconnu)} - \text{DO(négatif)}}{\text{DO(positif)} - \text{DO(négatif)}}$$

ELISA SOURIS.

Les sérums de souris sont testés en ELISA IgG selon une méthode proche de celle décrite pour l'ELISA IgG humain. Les solutions et tampons sont décrits dans l'**annexe III**.

- **Fixation de l'antigène.**

L'antigène ES (voir **annexe III**) est dilué dans du tampon carbonate pH 9,6 à une concentration d'environ 0,5 µg/ml, réparti à raison de 100 µl par puits dans des microplaques Immulon 96 cupules (Dynatech M 129-A). Une incubation est ensuite effectuée dans une étuve à circulation d'air pendant 1 heure à 37°C.

- **Lavages.**

Trois lavages successifs sont effectués, le premier de quelques secondes et les deux autres de 5 min. Chaque cupule reçoit 200 µl de tampon phosphate de lavage (PBS-Tween) distribué à l'aide d'une multipipette ou d'un appareil (Dynatech Ultrawash II).

- **Bloquage des sites de fixation libres sur la microplaque (saturation).**

Afin d'éviter des fixations non spécifiques sur la microplaque, les sites encore libres sont saturés d'albumine bovine par adjonction de 300 µl par puits de PBS-Tween-BSA 2% pendant une demi-heure à 37°C.

- **Lavages identiques aux précédents.**

- **Incubation des sérums.**

Les sérums à tester sont dilués 50 fois dans du PBS-Tween-BSA 1% et déposés dans deux cupules contiguës, à raison de 200 µl/cupule. En plus, deux puits sans sérum ne reçoivent que du PBS-Tween-BSA (blancs).

- **Lavages identiques aux précédents.**

- **Incubation des anticorps secondaires.**

Les anticorps secondaires sont des IgG de chèvre anti-IgG de souris, couplés à une phosphatase alcaline (KPL No 05-18-02 à 0,1 mg/ml). Ils sont dilués à 1/2'000 dans du PBS-Tween-BSA 1% et déposés dans la microplaque à raison de 200 µl/cupule. L'incubation de 1 heure se fait à 37°C.

- **Lavages identiques aux précédents.**

- Incubation du substrat.

Le para-nitrophényl-phosphate (Aldrich No 85,738-0) est dilué à raison de 1 mg/ml dans un tampon diéthanolamine-HCl pH 9,8 et réparti à raison de 200 μ l/cupule. L'incubation à 37°C dure entre 30-60 minutes selon la vitesse de la réaction.

- Arrêt de la réaction.

La réaction est arrêtée par adjonction de 50 μ l/cupule de NaOH 3M.

- Lecture de la réaction.

La lecture se fait à 405 nm par un Autoreader Dynatech de type MR 580.

Les valeurs de chaque sérum sont données directement en absorbance.

QUESTIONNAIRE SUR LA TOXOCAROSE

Entourez vos choix, plusieurs réponses sont possibles.

Lieu: Date:

Quelle est votre profession?

Votre lieu de travail est situé en: **ville / campagne / forêt**

Possédez-vous un chien? **oui / non**

- si oui : est-il vermifugé: **souvent / régulièrement / jamais**

- si non : avez-vous des contacts avec des chiens?
fréquemment / régulièrement / rarement

Possédez-vous un chat? **oui / non**

- si oui : est-il vermifugé: **souvent / régulièrement / jamais**

Mangez-vous de la viande crue: **souvent / quelques fois / rarement**

Mangez-vous la viande rouge: **à point / saignante**

La viande que vous consommez provient de:

boucherie locale / grande surface / production personnelle ou ferme

Estimez-vous consommer du lait:

fréquemment / régulièrement / rarement / jamais

Le lait que vous buvez provient de:

laiterie / grande surface / la ferme / production personnelle

Le lait que vous achetez est: **pasteurisé / cru**

Cuisez-vous le lait avant de le boire: **oui / non**

Estimez-vous consommer beaucoup de salade et légumes: **oui / non**

D'où proviennent-ils: **achetés / production personnelle**

TOXOCAROSE		
Médecin	Date:	
Nom:	Prénom:	
Année de naissance:		
Localité:		
Spécialisation:		
Connaissances		
- Comment estimez-vous vos connaissances de la toxocarose ?		
Parfaites	Satisfaisantes	
Insuffisantes	Nulles	
- Où situez-vous votre intérêt pour cette maladie ?		
Passionné	Intéressé	
Indifférent		
- Dans votre expérience, avez-vous déjà vu un patient atteint de toxocarose ?		
Oui	Non	
- Estimez-vous la maladie ?		
Fréquente	Endémique	
Rare	Très rare	
Fréquence		
- Avez-vous déjà diagnostiqué une toxocarose ?		
Oui	Non	Si oui combien
- En avez-vous diagnostiqué une dans l'année 1989?		
Oui	Non	Si oui combien
- Avez-vous déjà suspecté une toxocarose ?		
Souvent	Rarement	
Jamais		
- Lorsque vous suspectez une toxocarose, effectuez-vous un test sérologique ?		
Oui	Non	
- Vous attendez-vous à diagnostiquer cette maladie surtout chez les:		
Enfants	Adolescents	
Adultes	Ne sait pas	

Entourez ce qui convient.

No Prél.	Oeufs de <i>T.canis</i>		
	Innocués Nb.	Retrouvés Nb.	
1	0	0	0%
2	0	0	0%
3	5	1	20%
4	5	0	0%
5	10	0	0%
6	10	1	10%
7	20	2	10%
8	20	1	5%
9	50	7	14%
10	50	5	10%
11	100	10	10%
12	100	8	8%
13	500	78	15%
14	500	52	11%
15	1000	314	32%
16	1000	271	27%

Tab. F. Analyse par flottation au sulfate de magnésium des échantillons de terre contaminés artificiellement.

FLOTTATION AU SULPHATE DE MAGNESIUM:

- Tamiser grossièrement les échantillons de terre.
- Peser 25 g de terre dans un bécher.
- Ajouter 25 ml H₂O déminéralisée additionnée de 0,0025% de Tween-80 (Merk 822187).
- Agiter vigoureusement.
- Filtrer à travers une passoire et conserver le filtrat.
- Mélanger la terre restante dans 25 ml H₂O + Tween-80.
- Agiter vigoureusement.
- Filtrer à nouveau.
- Réunir les deux filtrats dans un tube à centrifuger de 50 ml (Falcon N° 2099).
- Bien mélanger et centrifuger 10 min à 3700 t/m.
- Jeter le surageant.
- Remplir le tube d'une solution de KI (Merk N° 5040) à 5%, saturée en Sulphate de Magnésium (Merk N° 5882).
- Centrifuger 10 minutes à 3700 t/m.
- Comblé le tube avec de la solution saline jusqu'à former un ménisque.
- Déposer une lamelle sur le ménisque.
- Après 5 minutes, reprendre la lamelle sur une lame.
- Observer au microscope.

Afin de tester l'efficacité de cette méthode, 16 prélèvements de 25 g de terre préalablement stérilisée ont reçu 0, 5, 10, 20, 50, 100, 500 et 1'000 oeufs de *T. canis*. Ces échantillons ont ensuite été traités comme décrit ci-dessus.

Les résultats sont donnés dans le **tableau F**. Un nombre minimal de 20 oeufs par 25 g de terre permet une détection certaine de la contamination. Pour des doses inférieures, la mise en évidence des oeufs est encore possible mais aléatoire.

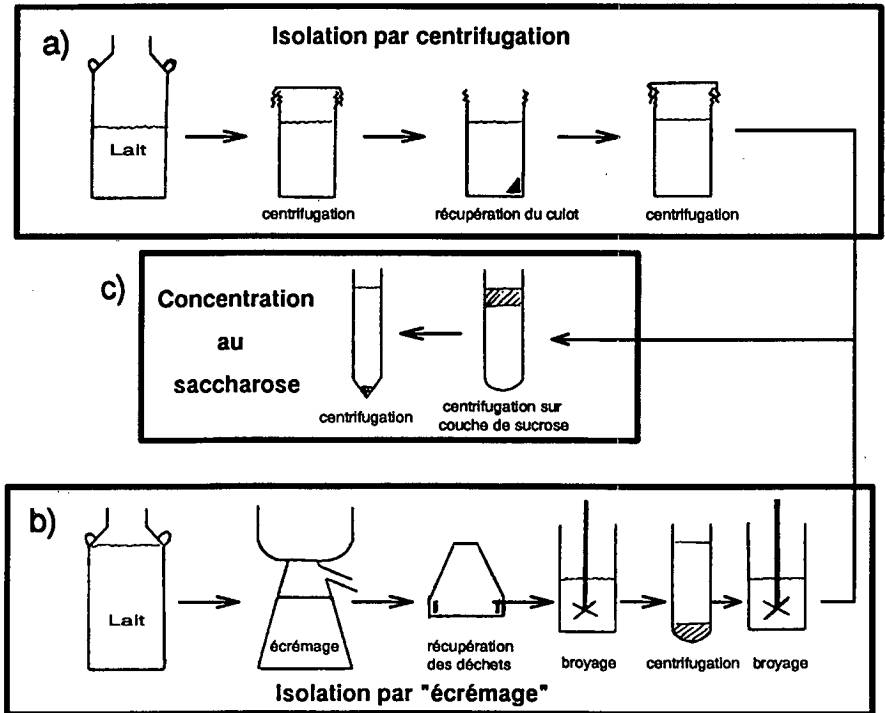


Fig. F. Succession des différentes opérations effectuées pour isoler les larves de *T. canis* du lait de vache.

RECHERCHE DES LARVES DE *T. CANIS* DANS LE LAIT.

Le lait a été concentré selon deux méthodes: la centrifugation simple et la centrifugation après écrémage (figure F). La recherche des larves a été effectuée dans les déchets récupérés après concentration sur couche de saccharose. Les étapes sont effectuées comme suit:

a) Isolation des larves par centrifugation du lait:

Le lait est réparti dans des récipients de 200 ml et centrifugé 15 minutes à 4000 t/min. Les surnageants sont jetés, les culots sont réunis et resuspendus dans de l'eau du robinet. Le culot subit deux nouveaux lavages par centrifugation.

b) Isolation des larves par "écrémage" du lait:

Le lait est centrifugé dans un appareil utilisé habituellement par les agriculteurs pour écrémer leur lait (marque inconnue). Le lait et la crème issus de la centrifugation sont écartés, les déchets (équivalent du culot dans une centrifugeuse habituelle) contenant les larves sont récupérés dans le rotor de la machine et broyés 10 secondes dans un appareil (Servall Omni-Mixer AC-DC NY). Le mélange est à nouveau broyé puis lavé à l'eau par centrifugation (10 min à 4'000 t/min).

c) Centrifugation sur couche de saccharose:

Des tubes à centrifuger de 50 ml reçoivent un premier volume de 30 ml de solution de saccharose (1M). Dans chaque tube, 10 ml de liquide contenant les larves et les déchets du lait sont déposés délicatement sur le saccharose. Une centrifugation de 10 minutes à 4000 t/min permet aux grosses particules de traverser la couche de solution sucrée alors que la grande majorité des larves ne pénètre pas. Le surnageant est prélevé, dilué avec de l'eau et centrifugé à nouveau. Le culot est ensuite observé au microscope (4 x) entre lame et lamelle.

Le rendement est estimé par adjonction de 100 larves vivantes de *T. canis* dans 10 ml de déchet de lait avant traitement. Dans cette expérience, 63 larves ont été retrouvées.

Le rendement (63%) est acceptable si l'on considère la masse et la complexité du matériel de départ. Cette méthode permet donc de détecter très rapidement la présence de larves alors qu'un examen à la loupe de la totalité de l'extrait s'avérerait très pénible et aléatoire, les parasites devant être mobiles pour être observés.

Afin de comparer les deux méthodes d'isolation des larves à partir du lait de vache, 4 prélèvements de 5 litres de lait sont infectés expérimentalement par adjonction de 500 larves de *T. canis*. Deux volumes sont traités par centrifugation et 2 par "écrémage".

- Rendement de l'isolation par centrifugation suivie de la concentration au saccharose: Huit larves ont été retrouvées. Le rendement de la méthode seule est de 1,6%.
- Rendement de l'isolation par "écrémage" suivie de la concentration au saccharose: Vingt-trois larves ont été retrouvées, ce qui donne un rendement de 4,6%.

Ces valeurs sont nettement supérieures à celles de la méthode dite par centrifugation, mais elles restent toutefois relativement faibles. La supériorité de l'isolement par "écrémage" réside principalement dans la rapidité (30 litres de lait à l'heure) et dans la simplicité des manipulations.

Ainsi, ces deux méthodes ne permettent pas une estimation quantitative du nombre de larves contenues dans le lait, mais elles permettent de détecter la présence ou non d'une quantité relativement importante de ces dernières. En effet, il faut théoriquement un minimum de 88 larves dans 20 litres de lait pour qu'une seule soit retrouvée.

RESULTATS DES ANALYSES COPROLOGIQUES DES CHIENS. (Les abréviations sont présentées en fin de l'annexe).

Chiens de La Chaux-de-Fonds (âge moyen = 15 mois; prévalence 10%)

No	Race	Age en mois	Sexe	Promenade			Vermifuge			Résultats		
				Jam.	Rég.	Tj.	Jam.	Qqfo	Svt.	Dernier	Toxocara	Autres
1	Collie	19	F		1			1		8		
2	Cocker	14	M		1			1		1		
3	Setter	18	M		1			1		4		
4	Pinscher	12	F		1			1		4		
5	Caniche	10	M		1			1		5		
6	Bruno	15	F		1			1		4		T. canis
7	Bouvier bernois	2	F		1			1		5		T. canis
8	Pyrénées	19	M		1				1	10		T. canis
9	B. Belge	7	M		1			1		3		
10	Collie	16	M		1			1		1		
11	Collie	15	F		1				1	5		
12	Bouvier	18	F		1			1		5		
13	Bobtail	18	M		1			1		3		
14	Bichon	18	F		1				1	4		
15	Cocker	15	F		1				1	1		
16	Caniche	12	F		1			1		1		
17	Chow-chow	18	F		1			1		3		
18	Yorkshire	15	M		1			1		9		
19	Bobtail	17	F		1				1	6		
20	Courant CH	16	M		1				1	4		
21	Briard	12	F		1				1	7		
22	Afghan	18	M		1				1	7		
23	Teckel	14	F		1			1		4		
24	Yorkshire	17	F		1				1	5		
25	Appenzellois	10	F		1			1		9		
26	Schipperke	12	M		1			1		1		
27	Bull Mastiff	13	F		1			1		5		
28	B. Belge	12	M		1			1		2		T. canis T. vulpis
29	?	14	F		1				1	4		
30	Terre Neuve	17	F		1				1	9		
31	Pékinois	24	F		1		1					
32	Caniche	19	F		1			1		11		
33	Bouvier bernois	13	F		1			1		1		
34	B. allemand	20	F		1				1	5		
35	B. allemand	14	M		1			1		2		
36	Pékinois	12	M		1			1				
37	Beauceron	11	F			1			1	3		
38	Bouvier bernois	14	M		1			1		3		
39	Doque	14	M		1				1	4		
40	St Bernard	18	M			1	1					
41	Golden	18	F		1			1		7		
42	Vulpino	12	F		1				1	3		
43	Yorkshire	18	F		1		1					
44	Pékinois	17	F		1				1	2		
45	Setter	4	F		1			1		3		
46	B. allemand	28	M		1				1	9		
47	Labrador	21	M		1				1	2		
48	Doque	6	M		1				1	2		
49	Lévrier	19	M		1				1	7		
50	Bâtard	15	M		1			1		2		T. canis
51	Appenzellois	18	F		1		1					
52	B. allemand	9	M		1		1					
53	Caniche	18	M		1				1	2		
54	Pinscher	18	F		1			1				
55	Boxer	13	F		1			1		8		
56	B. allemand	18	M		1				1	8		
57	Bouvier bernois	18	F		1			1		5		T. canis
58	Bouvier bernois	14	M		1		1					T. leonina

Chiens de Neuchâtel (âge moyen = 31 mois; prévalence 4%).

Prélèvements de selles lors de consultations chez un vétérinaire.

Page suivante: prélèvements de selles par l'entremise des membres d'une société de cynologie.

No	Race	Age en mois	Sexe	Promenade			Vermifuge			Résultats	
				Jam.	Rég.	Ti.	Jam.	Qqtd	Svt.	Dernier	Toxocara
1	Dogue	108	F		1		1				
2	B. allemand	96	F		1		1				
3	Teckel		F		1		1				
4	Yorkshire	4	F		1			1	1		
5	Bâtard	4	F		1				1	1	
6	Yorkshire	72	F		1		1				
7	Setter	4	M		1			1	1		
8	Setter	108	F		1			1		12	
9	Setter	3	F		1				1	1	<i>Coccidia sp.</i>
10	Bichon	2	M		1		1				
11	Braque	108	F		1			1		1	
12	Yorkshire	11	F		1				1	5	
13	Briard	9	F		1		1				
14	Yorkshire	60		1					1	5	
15	B. allemand	11	M			1			1	8	
16	B. allemand	3	M		1		1				
17	B. allemand	51	F		1			1		11	
18	Cocker	8	M		1			1		3	
19	Yorkshire	9	M		1				1	1	
20	Cocker	7	F		1				1	2	
21	Bobtail	96	F		1			1		4	
22	Landseer	36	F		1			1		4	
23	Bâtard	2	F		1				1	1	
24	Caniche	53	F		1			1		12	
25	Bâtard	5	M			1		1		2	
26	Bouvier	12	M		1			1		4	
27	Colon	5	M		1			1		1	
28	B. allemand	9	M		1				1	2	
29	Teckel	84	M		1			1		6	
30	Teckel	3	F		1		1				
31	Golden Ret.	12	F		1				1	1	
32	B. allemand	108	M		1		1				
33	Caniche	3	F			1			1	1	
34	Bouvier	2	F		1		1				<i>T. canis</i>
35	B. allemand	9	M		1				1	1	
36	Teckel	10	M		1			1		4	

No	Race	Age en mois	Sexe	Promenade			Vermifuge			Résultats	
				Jam.	Rég.	Tj.	Jam.	Qqfd	Svt.	Demier	Toxocara
1	Caniche	9	M		1			1	2		
2	Labrador	17	M		1			1	2		
3	B. allemand	18	M		1		1				
4	B. allemand	22	M		1			1	12		
5	Briard	7	M			1			1	2	
6	B. allemand	48	M		1		1				
7	Bouvier bernois	22	M			1			1	1	
8	Terrier	36	F		1			1		9	
9	Bâtard	12	M		1				1	1	
10	B. allemand	15	F		1			1		1	
11	Leonberg	36	M		1			1		12	
12	Leonberg	24	F		1			1		12	
13	Collie	5	M		1		1				<i>T. canis</i>
14	B. des Tatras	20	F		1			1		6	
15	Cocker	22	M		1			1		4	
16	Collie	6	M		1			1		4	
17	Golden Ret.	30	F		1				1	4	
18	Labrador	76	F		1				1	2	
19	Briard	36	F		1			1		12	
20	Bâtard	100	M		1			1		12	
21	B. allemand	15	M			1		1		9	
22	Bâtard	10	F		1			1		8	
23	B. de Brie	36	F			1			1	9	
24	Bâtard	84	F		1			1		12	
25	B. mallinois	36	M		1			1		12	
26	Schnauzer	12	M		1			1		4	
27	Dogue	48	M		1			1		3	
28	Schnauzer	12	M		1			1		5	
29	Dobermann	22	F		1				1	1	<i>T. vulpis</i>
30	Bâtard	8	M			1			1	3	
31	B. allemand	72	F		1				1	6	
32	Leonberg	16	M		1				1	6	
33	Bâtard	100	M		1			1		12	
34	B. allemand	48	M		1			1		1	
35	B. allemand	6	F			1		1		1	
36	Golden Ret.	24	M		1			1		6	<i>Giardia sp.</i>
37	Labrador	13	F		1						
38	Bâtard	60	M		1		1				
39	Collie	6	M		1		1				
40	Terre-Neuve	22	F		1		1				<i>Strongyloides sp</i>
41	Collie	14	M		1				1	2	<i>T. canis</i>
42	Dobermann	20	F		1			1		3	
43	Teckel	96	F		1		1				
44	Beauceron	46	F		1			1		6	
45	Labrador	11	M		1			1		3	
46	B. allemand	16	F		1			1		11	
47	Bâtard	15	M		1		1				
48	Dogue	3	F		1		1				
49	Dobermann	8	M		1			1		4	
50	B. allemand	6	M		1		1				
51	Beauceron	28	M			1	1				
52	B. allemand	17	F		1				1	3	
53	B. mallinois	5	M			1	1				<i>Strongyloides sp</i>
54	B. allemand	48	M		1			1		12	
55	Bâtard	14	F		1			1		10	
56	B. allemand	84	M		1		1				
57	B. allemand	60	M		1		1				
58	B. Pyrénées	84	M		1			1		12	
59	B. Pyrénées	60	F		1			1		12	
60	B. allemand	8	M		1			1		1	<i>T. canis</i>
61	Bâtard	9	M		1		1				
62	Bâtard	5	M			1		1		1	
63	B. pyrénées	15	M			1		1		5	<i>Dicrocoelium sp.</i>
64	Dalmation	72	F		1			1		11	
65	Labrador	72	F		1			1		11	
66	B. Pyrénées	10	F		1				1	3	
67	B. Pyrénées	4	M		1				1	3	

Chiens de Neuchâtel
(société de cynologie).

Chiens de Couvet (âge moyen = 26 mois; prévalence 3%).

No	Race	Age en mois	Sexe	Promenade			Vermifuge			Résultats		
				Jam.	Rég.	IT.	Jam.	Qqfd	Svt.	Demier	Toxocara	Autres
1	Labrador	24	F		1				1	1		
2	Bouvier bernois	17	M			1			1	8		
3	Pékinois	4	F		1		1					
4	Labrador	21	M		1			1		11		
5	Bruno du Jura	36	M		1			1		3		
6	Cocker	48	F		1		1					
7	Bâtard	24	M			1	1					<i>T. canis</i>
8	Briard	34	M		1			1		8		
9	B. allemand	50	F		1			1		4		
10	Boxer	39	F		1			1				
11	Bâtard	36	M		1			1		6		<i>T. vulpis</i>
12	Bâtard	24	F		1		1					
13	Bouvier bernois	60	M		1			1				
14	Bouvier bernois	16	M		1			1		2		
15	Fox-Terrier	2	M		1			1				
16	Golden Ret.	70	M		1			1				
17	Collie	52	F		1				1	1		
18	B. allemand	16	F		1		1					
19	Cocker	18	M		1			1		3		<i>T. vulpis</i>
20	B. allemand	15	M			1		1		11		
21	?	24	F		1		1					
22	Labrador	37	M			1		1				
23	B. allemand	29	M		1				1	3		
24	B. malinois	24	M		1			1		11		
25	Bâtard	15	F			1	1					
26	?	12	F		1			1		2		
27	Bâtard	40	F		1				1	1		
28	B. malinoise	19	M			1		1		5		
29	Bâtard	29	F		1		1					<i>Coccidies</i>
30	Dobermann	26	F		1		1					<i>Taenia sp.</i>
31	Bruno du Jura	33	F			1			1	1		
32	Griffon	17	M			1			1	1		
33	Musterland	7	M			1			1	1		<i>T. leon. T. vulp.</i>

Chiens des Breuleux (âge moyen = 10 mois; prévalence 13%).

No	Race	Age en mois	Sexe	Promenade			Vermifuge			Résultats		
				Jam.	Rég.	TJ.	Jam.	Qqfo	Svt.	Dernier	Toxocara	Autres
1	B. allemand	9	F			1			1	6		
2	B. allemand	9	M		1		1					
3	Bobtail	7	M			1		1		2		
4	Bruno du Jura	3	F			1	1					
5	B. allemand	7	F		1		1					
6	Fox-Terrier	4	M		1			1		5		
7	Caniche	12	M			1	1					
8	Bâtard	6	M		1			1		8		
9	B. allemand	18	F		1		1				<i>T. canis</i>	
10	B. allemand	22	M			1			1	3		
11	Bouvier	12	F		1			1		5		
12	Caniche	6	F			1	1	1		9		
13	Bouvier	21	F		1		1				<i>T. canis</i>	
14	B. allemand	9	M			1	1					
15	Bâtard	8	F		1		1					<i>T. vulpis</i>

Chaque tableau concerne une localité. Les abréviations utilisées sont les suivantes:

- F = féminin; M = masculin
- Jam. = jamais; Rég. = régulièrement; TJ. = toujours dehors
- Qqfo = quelque fois; Svt. = souvent; Dernier = nombre de mois depuis la dernière vermifugation.
- B. = Berger.
- *T.leon.* = *T. leonina*; *T.vulp.* = *T. vulpis*

Mes vifs remerciements s'adressent au Professeur M. Brossard, Directeur de Thèse, qui a été l'initiateur de ce travail et qui a su me suivre durant cette étude, ainsi qu'au Professeur A. Aeschlimann, Directeur de l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel, qui, le premier a suscité mon intérêt pour la parasitologie.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à toutes les personnes qui m'ont aidé et encouragé tout au long de ce travail:

- Messieurs A.-F. von Allmen, A. Rutti, et C. Saucy, vétérinaires, pour leur aide dans la recherche de chiens infectés et les prises de sang sur les bovins.
- Monsieur R. Noirjean, agriculteur à la Combe-à-la-Biche et Monsieur H.-P. Furrer, fromager aux Parcs (Les Bayards), pour leur gentillesse et leur disponibilité.
- Le Docteur A. Murbach et Monsieur A. Wenger de la Maison Ciba-Geigy pour leur précieuse collaboration.
- Le Docteur J.-M. Weber pour ses conseils ainsi que toutes les personnes du groupe d'éco-éthologie de l'Institut de Zoologie pour leur aide dans la récolte de lait et les captures de micromammifères.
- Les Docteurs Favre et Loizeau du Centre de Transfusion Sanguine de La Chaux-de-Fonds, qui m'ont fait parvenir des sangs de donateurs.
- Les Docteurs Gaze de l'Hôpital Pourtalès, Friolet de l'Hôpital Régional de Delémont et Favre de l'Hôpital de La Chaux-de-Fonds et leurs équipes respectives, qui ont mis des sérums d'enfants à disposition.
- Les Docteurs J.-F. Magnaval des Hôpitaux de Toulouse, C. Riera de l'Université de Barcelone, N. Weiss de l'Institut Tropical de Bâle, qui m'ont fait parvenir des sérums de patients infectés.
- Les Docteurs B. Gottstein et C. Bordier qui m'ont fourni du matériel de travail.
- Mesdames M. Barrientos, G. Brossard, A. Conte, étudiantes ainsi que Monsieur S. Aubry, laborant, pour leur aide scientifique et technique.
- Le Docteur Lise Gern pour son précieux soutien scientifique.
- Le Professeur M. Brossard et Messieurs G. Mülhauser et Y. Moosmann, pour leur conseils dans la rédaction de ce travail.
- Madame J. Pont, bibliothécaire, pour son aide précieuse dans ma recherche bibliographique.
- Tout mon entourage à l'Institut de Zoologie de l'Université de Neuchâtel et plus particulièrement à mes collègues du Laboratoire d'Immunologie pour son aimable compagnie.

J'adresse un message affectueux à Catherine, Nanda et Adrien, qui ont su créer une ambiance de travail agréable au Laboratoire de Diagnostic Parasitaire.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement Catherine, ma compagne, ainsi que mes parents, pour leur soutien moral tout au long de mes études.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'aide financière du Diagnostic Parasitaire de l'Institut de Zoologie de Neuchâtel.

A

ABDEL-HAMEED, A.A. 1984. Effect of thiabendazole on the migration of *Toxocara canis* larvae in the mouse. *J.Parasitol.* 70(2):226-231

ABO-SHEHADA, M.N., HERBERT, I.V. 1984. Anthelmintic effect of levamisole, ivermectin, albendazole and fenbendazole on larval *Toxocara canis* infection in mice. *Res.Vet.Sci.* 36:87-91

AGUILA, DEL.C., CUELLAR, C., GUILLEN, J.L. 1988. Excretory/secretory antigen of *Toxocara canis*: recognition profiles of polyclonal and larvicidal monoclonal antibodies. *Parasite.Immunol.* 10:237-241

AGUILA, C., CUELLAR, C., FENOY, S., GUILLEN, J.L. 1987. Comparative study of assay detecting circulating immune complexes and specific antibodies in patients infected with *Toxocara canis*. *J.Helminthol.* 61:196-202

AKAO, N. 1985. Immune response to excretory-secretory products of second stage larvae of *Toxocara canis*: Humoral immune response relating to larval trapping in the livers of reinfected mice. *Jap.J.Parasitol.* 34(4):293-300

AKAO, N., KONDO, K., OKAMOTO, T., YOSHIMURA, H. 1983. Antigenic analysis of excretory-secretory products of second stage larvae of *Toxocara canis* and the antigen recognition in the course of infection. *Jap.J.Parasitol.* 32(6):541-548

ALJEBOORI, T.I., IVEY, M.H. 1970. *Toxocara canis* infection in baboons. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 19(2):249-254

ANNEN, J.M., ECKERT, J., HESS, U. 1975. Eine einfache Methode zur gewinnung von *Toxocara canis*-Antigen für die indirekte Immunofluoreszenz-Technik. *Acta Trop.* 32(1):37-47

ANNUAIRE STATISTIQUE DE LA SUISSE 1989. 1988. Office fédéral de la statistique. Verlag Neue Zürcher Zeitung, Zürich.

ARPINO, C., GATTINARA, G.C., PIERGILI, D., CURATOLO, P. 1990. *Toxocara* infection and epilepsy in children: a case-control study. *Epilepsia* 31(1):33-36

ARTHER, R.G., FITZGERALD, P.R., FOX, J.C. 1981. Parasite ova in anaerobically digested sludge. *J.Water Pollut.Contr.Fed.* 53(8):1334-1338

B

BADLEY, J.E., GRIEVE, R.B., BOWMAN, D.D., GLICKMAN, L.J., ROCKEY, J.T. 1987. Analysis of *Toxocara canis* larval excretory-secretory antigens: physicochemical characterization and antibody recognition. *J.Parasitol.* 73(3):593-600

BAER, J.G. 1972. Transmission d'helminthes par le lait. *Parasitol.* XIV(1):11-14

BAILINGER, J. 1982. Concentration au MIF. Méthode de Blagg, Schloegel, Mansor et Khalaf. Concentration au MIF. Coprologie parasitaire et fonctionnelle, 4ème éd., 52, rue d'Arcachon, 33'000 Bordeaux. p82.

BARNES, R.S.K. 1984. A synoptic classification of living Organisms. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

- BARRIENTOS, M.M.**, 1990. Rôle des micromammifères dans l'épidémiologie de la toxocarose. Travail de Certificat de Parasitologie, Institut de Zoologie, Université de Neuchâtel.
- BARRIGA, O.O.O.** 1988. A critical look at the importance, prevalence and control of toxocarosis and the possibilities of immunological control. *Vet.Parasitol.* 29:195-234
- BARRIGA, O.O.O.**, 1991. Rational control of canine toxocarosis by the veterinary practitioner. *J.Am.Vet.Med.Assoc.* 198(2):216-221
- BEAVER, P.C.** 1956. Larva Migrans. *Exp.Parasitol.* 5:587-621
- BEAVER, P.C.** 1962. Toxocarosis (visceral larva migrans) in relation to tropical eosinophilia. *Bull.Soc.Pathol.Exotique.* 55:555-576
- BEAVER, P.C., SNYDER, C.H., CARRERA, G.M., DENT, J.H., LAFFERTY, J.W.** 1952. Chronic eosinophilia due to *Visceral larva migrans*. *Ped.* 9:7-19
- BEHRER, M.F.** 1951. Hypereosinophilia with eosinophilic granuloma of the liver associated with *Ascaris* infestation. *J.Pediat.* 38:635-639
- BENTLEY, R., DALY, M., HARRIS, T.** 1980. *Toxocara* infection among veterinarians. *Vet.Rec.* 106:277-278
- BERESFORD-JONES, W.P.** 1961. Observations on the helminths of British wild red foxes. *Vet.Rec.* 73(36):882-883
- BERROCAL, J.** 1980. Prevalence of *Toxocara canis* in babies and in some adults as determined by ELISA test. *Trans.Am.Ophthalmol.Soc.* 78:376-413
- BESWICK, W., REILLY, W.J.** 1987. *Toxocara* species eggs in London parks. *Vet.Rec.* 120(7):166
- BIGLAND, A.W., GLICKMAN, L.T., LOBES, L.A.** 1979. Serum and vitreous *Toxocara* antibody in nematode endophthalmitis. *Am.J.Ophthalmol.* 88(5):898-901
- BISSERU, B., WOODRUFF, A.W.** 1968. The detection of circulating antibody in human *Toxocara* infections using the indirect fluorescent antibody test. *J.Clin.Pathol.* 21:449-455
- BISSERU, B., WOODRUFF, A.W., HUTCHINSON, R.I.** 1966. Infection with adult *Toxocara canis*. *Brit.Med.J.* 1:1583-1585
- BLOCH, E.F., FLOYD, J., MALVEAUX, M.D.** 1985. The significance of immunoglobulin E in resistance to parasitic infections. *Ann.Allergy* 54:83-94
- BORG, O.A., WOODRUFF, A.W.** 1973. Prevalence of infective ova of *Toxocara* species in public places. *Br.Med.J.* 4:470-472
- BOUCHET, F., LEGER, N.** 1984. Prevention de la toxocarose en milieu urbain. Présentation d'une nouvelle technique d'assainissement des bacs à sable. *Bul.Soc.Franc.Parasitol.* 2:43-47
- BOWMAN, D.D., MIKA-GRIEVE, M., GRIEVE, R.B.** 1987a. Circulating excretory-secretory antigen levels and specific antibody responses in mice infected with *Toxocara canis*. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 36(1):75-82
- BOWMAN, D.D., MIKA-GRIEVE, M., GRIEVE, R.B.** 1987b. *Toxocara canis*: Monoclonal antibodies to larval excretory-secretory antigens that bind with genus and species specificity to the cuticular surface of infective larvae. *Exp.Parasitol.* 64:458-465

BOYCE, W.M., BRANSTETTER, B.A., KAZACOS, K.R. 1988. Comparative analysis of larval excretory-secretory antigens of *Baylisascaris procyonis*, *Toxocara canis* and *Ascaris suum* by western blotting and enzyme immunoassay. *Int.J.Parasitol.* **18(1)**:109-113

BOZDECH, VON.V. 1981. Larval toxocarasis in the human. I. Parasite egg findings in Prague parks. (D) *Angew.Parasitol.* **22**:71-77

BROCHIER, B., MAGNAVAL, J.F., CARRIERE, G., DUBLY, E. 1984. Les IgE spécifiques dans les syndromes de larva migrans viscérales. *Bul.Soc.Franc.Parasitol.* **3**:97-100

BROOK, I., FISH, C.H., SCHANTZ, P.M., COTTON, D.D. 1981. Toxocarasis in an institution for the mentally retarded. *Inf.Control.* **2(4)**:317-320

BROWN, H.C., STAMMERS, G.E.F. 1922. Observations on canine faeces on London pavements: bacteriological, helminthological and protozoological. *Lancet* **2**:1165-1167

BRUNELLO, F., FALAGIANI, P., GENCHI, C. 1986. Enzyme immunoassay (ELISA) for the detection of specific IgG antibodies to *Toxocara canis* ES antigens. *Boll.Ist.Sieroter.Milan.* **65(1)**:54-60

BUNDY, D.A.P., THOMPSON, D.E., ROBERTSON, B.D., COOPER, E.S. 1987. Age-relationships of *Toxocara canis* seropositivity and geohelminth infection prevalence in two communities in St. Lucia, West Indies. *Trop.Med.Parasitol.* **38**:309-312

BURKE, T.M., ROBERSON, E.L. 1985. Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch before pregnancy. *Int.J.Parasitol.* **15(1)**:71-75

BURREN, C.H. 1971. The distribution of *Toxocara* larvae in the central nervous system of the mouse. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* **65(4)**:450-453

C

CALHOUN, F.P. 1937. Intralocular invasion by the larva of the ascaris. *Arch.Ophthalmol.* **18**:963-970

CARLIER, Y., YANG, Y., BOUT, D., CAPRON, A. 1982. The use of an excretory-secretory antigen for an ELISA specific serodiagnostic of visceral larva migrans. *Biomed.* **36**:39-42

CAUCANAS, J.P., MAGNAVAL, J.F., PASCAL, J.P. 1988. Prevalence of toxocaral disease. *Lancet* **1**:1049

CAVENESS, F.E., JENSEN, H.J. 1955. Modification of centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proc.Helm.Soc.Wash.* **22**:87-89

CHAUDHURI, R.N., SAHA, T.K. 1959. Tropical eosinophilia: experiments with *Toxocara canis*. *Lancet* **2**:493-494

CHIEFFI, P.P., MUELLER, E.E. 1976. Prevalence of *Toxocara canis* in dogs and the findings of ova of *Toxocara* species in the soil of public places in the urban areas of Londrina, State of Parana, Brazil. (SP) *Rev.Saude Publ.* **10**:367-372

CHILDS, J.E. 1985. The prevalence of *Toxocara* species ova in backyards and gardens of Baltimore, Maryland. *Am.J.Publ.Health.* **75**:1092-1094

- CLEMETT, R.S., TUFT, S.J. 1983. Toxocariasis: a neglected entity. *NZ.Med.J.* 96:517-520
- CLEMETT, R.S., HIDAJAT, R.R., ALLARDYCE, R.A., STEWART, A.C. 1985. Toxocaral infection by hydatid control officers: diagnosis by enzyme immunoassay. *NZ.Med.J.* 98:737-739
- COLLINS, G.H. 1973. A limited survey of gastro-intestinal helminths of dogs and cats. *NZ.Vet.J.* 21:175-176
- COLLINS, R.F., IVEY, M.H. 1975. Specificity and sensitivity of skin test reactions to extracts of *Toxocara canis* and *Ascaris suum*. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 24(3):445-459
- COLLINS, G.H., MOORE, J. 1982. Soil survey for eggs of *Toxocara* species. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 76(5):579-580
- CYPESS, R.H., GLICKMANN, L.T. 1978. Serological tests for *Toxocara*. *Lancet* 2:597
- CYPESS, R.H., KAROL, M.H., ZIDIAN, J.L., GLICKMAN, L.T., GITLIN, D. 1977. Larva-specific antibodies in patients with visceral larva migrans. *J.Infect.Dis.* 135:633-640
- D**
- DADA, B.J.O. 1979. A new technique for the recovery of *Toxocara* eggs from soil. *J.Helminthol.* 53:141-144
- DADA, B.J.O., LINQUIST, W.D. 1979a. Studies on flotation techniques for the recovery of helminth eggs from soil and the prevalence of eggs of *Toxocara spp.* in some Kansas public places. *J.Am.Vet.Med.Ass.* 174(11):1208-1210
- DADA, B.J.O., LINDQUIST, W.D. 1979b. Prevalence of *Toxocara spp.* eggs in some public grounds and highway rest areas in Kansas. *J.Helminthol.* 53:145-146
- DAVIES, P., NICHOLAS, W.L. 1977. The helminth parasites of dogs in the goodradigbee shire of New South Wales. *Aust.Vet.J.* 53:247-248
- DE SAVIGNY, D.H. 1975. In vitro maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J.Parasitol.* 61:781-782
- DE SAVIGNY, D.H., TIZARD, I.R. 1977. Toxocaral larva migrans: the use of larval secretory antigens in haemagglutination and soluble antigen fluorescent antibody tests. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 71(6):501-507
- DE SAVIGNY, D.H., VOLLER, A. 1980. Comparison of isotropic and non isotropic methods in a model system for parasite serology. *Int.J.Nucl.Med.Biol.* 7:165-171
- DE SAVIGNY, D.H., VOLLER, A., WOODRUFF, A.W. 1979. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. *J.Clin.Pathol.* 32:284-288
- DELIBES, M. 1990. Status et conservation du loup (*Canis lupus*) dans les Etats membres du Conseil de l'Europe. Conseil de l'Europe, Collection Sauvegarde de la Nature n°47, Strasbourg.
- DESOWITZ, R.S., RUDOY, R., BARNWELL, J.W. 1981. Antibodies to canine helminth parasites in asthmatic and non asthmatic children. *Int.Arch.Allergy.Applied Immunol.* 65:361-366
- DODGE, J.S. 1980. *Toxocara canis*: the risks of infection. *NZ.Med.J.* 91(1):24-26

DOUGLAS, J.R., BAKER, N.F. 1959. The chronology of experimental intrauterine infections with *Toxocara canis* (Werner 1782) in the dog. *J.Parasitol.* 45(suppl):43-44

DUBIN, S., SEGALL, S., MARTINDALE, J. 1975. Contamination of soil in two city parks with canine nematode ova including *Toxocara canis*: A preliminary study. *Am.J.Publ.Health.* 65:1242-1245

DUEWEL, D. 1984. The prevalence of *Toxocara* eggs in the sand in children's playgrounds in Frankfurt/M. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 78(6):633-636

DUNSMORE, J.D., THOMPSON, R.C.A., BATES, I.A. 1983. The accumulation of *Toxocara canis* larvae in the brains of mice. *Int.J.Parasitol.* 13(5):517-521

DUNSMORE, J.D., THOMPSON, R.C.A., BATES, I.A. 1984. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. *Vet.Parasitol.* 16(3-4):303-311

E

EHRENFORD, F.A. 1957. Canine ascariasis as a potential source of visceral larva migrans. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 6:166-170

EHRHARD, T., KERNBAUM, S. 1979. *Toxocara canis* et toxocarose humaine. *Bull.Inst.Pasteur.* 77:225-287

EMBIL, J.A., TANNER, C.E., PEREIRA, L.H., STAUDT, M., MORRISON, E.G., GUALAZZI, D.A. 1988. Seroepidemiologic survey of *Toxocara canis* infection in urban and rural children. *Publ.Hlth.* 102:129-133

ESTERRE, P., AGIS, F. 1985. Les nématodes du sable des plages en Guadeloupe: Problèmes de santé publique associés. *Bull.Soc.Pathol.Exotique.* 78:71-78

EUZEBY, J. 1963. Les maladies vermineuses des animaux domestiques. Vigot Fr. ED. Paris.483-618

EWALD, D. 1989. Zur Epidemiologie des Fuchsbandwurmes *Echinococcus multilocularis* (Leuckart, 1863) und einiger anderer Parasiten von Rotfuchs (*Vulpes vulpes*) und Bisam (*Ondatra zibethicus*). Diplomarbeit an der Fakultät für Biologie der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg i. Br.

F

FAIRBAIRN, D. 1961. The in vitro hatching of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Can.J.Zool.* 39:153-162

FELBERG, N.T., SCHIELDS, J.A., FEDERMAN, J.L. 1981. Antibody to *Toxocara canis* in the aqueous humor. *Arch.Ophthalmol.* 99:1563-1564

FERNANDO, S.T., VASUDEVAN, B. 1970. Precipitin reactions in monkeys (*Macaca sinica*) experimentally infected with *Toxocara canis* and in children with visceral larva migrans syndrome. *J.Comp.Path.* 80:407-414

FOX, A.S., KAZACOS, K.R., GOULD, N.S., HEYDEMANN, P.T., THOMAS, C., BOYER, K.M. 1985. Fatal eosinophilic meningoencephalitis and Visceral larva migrans caused by the racoon ascarid. *New Engl.J.Med.* 312:1619-1623

FUELLEBORN, F. 1921. Askarisinfektion durch Verzehren eingekapselter Larven und über gelungene intrauterine Askarisinfektion. *Arch.Schiffs-u.Tropen.Hyg.* 25:367-375

G

- GALEN, R., GAMBINO, T.** 1975. Beyond normality: the predictive value and efficiency of medical diagnosis. John Wiley and Sons, New York.
- GALVIN, T.J.** 1964. Experimental *Toxocara canis* infections in chicken and pigeons. *J.Parasitol.* 50(1):124-127
- GENCHI, C.** 1976. Incidenza di uova di alcune specie di elminti intestinali del cane nei parchi pubblici delle città di Milano. *Archiv.Vet.Ital.* 27(3-4):98-99
- GENCHI, C., ALMAVIVA, M., CROCCHIOLO, P., BRUNELLO, F., FALAGIANI, P., RIVA, G., SIMONELLI, E., SIOLI, C., VIGEVANI, G.M.** 1983. Anticorpi IgE contro *Toxocara canis* in popolazioni "a rischio". *G.Mal.Infett.Parassitol.* 35(12):1479-1481
- GENCHI, C., TINELLI, M., BRUNELLO, F., FALAGIANI, P.** 1986. Serodiagnostic of ocular toxocarasis: a comparison of specific IgE and IgG. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 80:993-994
- GENCHI, C., FALAGIANI, P., RIVA, G., TINELLI, M., BRUNELLO, F., BOERO, M., ALMAVIVA, M.** 1988. IgE and IgG antibodies in *Toxocara canis* infection. A clinical evaluation. *Ann.Allergy* 61:43-46
- GHADIRIAN, E., VIENS, P., STRYKOWSKI, H., DUBREUIL, F.** 1976. Epidemiology of toxocarasis in the Montreal areas. Prevalence of *Toxocara* and other helminth ova in dogs and soil. *Can.J.Publ.Health.* 498: 495-498
- GIRDWOOD, R.W.A., SMITH, H.V., BRUCE, R.G., QUINN, R.** 1978. Human *Toxocara* infection in West of Scotland. *Lancet* 1:1318
- GLICKMAN, L.T., CYPRESS, R.H.** 1977. *Toxocara* infection in animal hospital employees. *Am.J.Publ.Health.* 67(12):1193-1195
- GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M.** 1981. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocarasis. *Epidemiol.Rev.* 3:230-250
- GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M.** 1985. Do *Toxocara canis* larval antigens used in enzyme-linked immunosorbent assay for visceral larva migrans cross-react with AB isohemagglutinins and give false positive results? *Z.Parasitenkd.* 71:395-400
- GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M., DOMBROSKE, R., CYPRESS, R.** 1978. Evaluation of serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 27(3):492-498
- GLICKMAN, L.T., CYPRESS, R.H., CRUMRINE, P.K., GITLIN, D.A.** 1979a. *Toxocara* infection and epilepsy in children. *J.Ped.* 1:75-78
- GLICKMAN, L.T., CYPRESS, R., HILES, D., GESSNER, T.** 1979b. *Toxocara*-specific antibody in the serum and aqueous humor of a patient with presumed ocular and visceral toxocarasis. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 28:29-35
- GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M., CYPRESS, R.H.** 1979c. Epidemiological characteristics and clinical findings in patients with serologically proven toxocarasis. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 73:245-258
- GLICKMAN, L.T., CHAUDRY, H.U., COSTANTINO, J., CLACK, F.B., CYPRESS, R.H., WINSLOW, L.** 1981. Pica patterns, toxocarasis, and elevated blood lead in children. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 30(1):77-80
- GLICKMAN, L.T., MAGNAVAL, J.F., BROCHIER, B.** 1985. Séroprévalence des larva migrans viscérales dans la région Midi-Pyrénées. *Presse Med.* 19:1094

GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M., GRIEVE, R.B. 1986. Toxocariasis. In *Immunodiagnosis of Parasitic Disease*, 201-231, eds. K. Walls, P. Schantz. New-York: Academic Press

GLICKMAN, L.T., MAGNAVAL, J.F., DOMANSKI, L.M., SHOFER, F.S., LAURIA, S.S., GOTTSTEIN, B., BROCHIER, B. 1987. Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome. *Am.J.Epidemiol.* 125(6):1019-1034

GONZALEZ-ANDUJAR, J.L., GONZALEZ-GARCIA, C. 1986. Modelos de distribución de frecuencias de *Toxocara canis* (nematoda) en zorro común (*Vulpes vulpes* L.). *Rev.Iber.Parasitol.* 46(2):153-156

GUALAZZI, D.A., EMBIL, J.A., PEREIRA, L.H. 1986. Prevalence of helminth ova in recreational areas of peninsular Halifax, Nova Scotia. *Can.J.Publ.Health.* 77(2):147-151

GUILLEN-LLERA, J.L., AGUILA, C., HOYO, C. 1985. Immunodiagnosis of Visceral larva migrans by ELISA. *Rev.Iber.Parasitol.* 45(1):93-94

GUILLEN-LLERA, J.L., CUELLAR, C., AGUILA, C. 1986. Light dependency in the embryonic development of *Toxocara canis*. (SP) *Rev.Iber.Parasitol.* 46(1):67-74

H

HERLICH, H. 1956. A digestion for post-mortem recovery of nematodes from ruminants. *Proc.Helm.Sco.* 23(2):102-103

HERRMANN, N., GLICKMAN, L.T., SCHANTZ, P.M., WESTON, M.G., DOMANSKI, L.M. 1985. Seroprevalence of zoonotic toxocariasis in the United States: 1971-1973. *Am.J.Epidemiol.* 122(2):890-896

HINMAN, E.H., BAKER, D.D. 1936. Helminthological survey of 1,315 dogs from New-Orleans with special reference to age-resistance. *J.Trop.Med.* 39:101-104

HOGARTH-SCOTT, R.S. 1966. Visceral larva migrans an immunofluorescent examination of rabbit and human sera for antibodies to the ES antigens of the second stage larvae of *Toxocara canis*, *Toxocara cati* and *Toxocara leonina* (nematoda). *Immunol.* 10:217-223

HOGARTH-SCOTT, R.S., FEERY, B.J. 1976. The specificity of nematode allergens in the diagnosis of human visceral larva migrans. *Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci.* 54:317-327

HOGARTH-SCOTT, R.S., JOHANSSON, S.G.O., BENNICHT, H. 1969. Antibodies to *Toxocara* in the sera of visceral Larva Migrans patients: the significance of raiser levels of IgE. *Clin.Exp.Immunol.* 5:619-625

HOLT, P.E. 1976. *Toxocara canis*: an estimation of the incidence of infection in puppies in an industrial town. *Vet.Rec.* 98:383

HOERCHNER, VON.F., UNTERHOLZNER, J., FRESE, K. 1981. Zum Vorkommen von *Toxocara canis* und anderen Endoparasiten bei Hunden in Berlin (West). *Berl.Muench.Tieraerztl.Wschr.* 94:220-223

HUFF, D.S., NEAFIE, R.C., BINDER, M.J., DE LEON, G.A., BROWN, L.W., KAZACOS, K.R. 1985. The first fatal *Baylisascaris* infection in humain: an infant with eosinophilic meningoencephalitis. *Ped.Pathol.* 2:345-352

HUNTLEY, C.C., MORELAND, A. 1963. Gel diffusion studies with *Toxocara* and *Ascaris* extracts. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 12:204-210

HUNTLEY, C.C., COSTAS, M.C., LYERLY, A. 1965. Visceral larva migrans syndrome: clinical characteristics and immunologic studies in 51 patients. *Pediatrics* 36(4):523-536

ISHIZAKA, T., URBAN, J., TAKATSU, K., ISHIZAKA, K. 1976. Immunoglobulin E synthesis in parasite infection. *J.Allergy.Clin.Immunol.* 58:523-538

IZZAT, N.N., OLSON, L.J. 1970. Resistance of mice to *Toxocara canis*: effect of prechallenge infections and injections of worm extract. *Can.J.Zool.* 48:1063-1066

J

JACOBS, D.E. 1987. Control of *Toxocara canis* in puppies: a comparison of screening techniques and evaluation of a dosing programme. *J.Vet.Pharmacol.Therapy.* 10:23-29

JACOBS, D.E., PEGG, E.J. 1976. Gastro-intestinal nematodes of elite show dogs in Great Britain. *J.Helminthol.* 50:265-266

JACOBS, D.E., WOODRUFF, A.W., SAH, A.I., PROLE, J.H.B. 1977. *Toxocara* infections and kennel workers. *Br.Med.J.* 1:51

JARRETT, E.E.E., STEWART, D.C. 1972. Potentiation of rat reaginic (IgE) antibody by helminth infection. *Immunol.* 23:749-755

JESKA, E.L. 1967. Antigenic analysis of a metazoan parasite, *Toxocara canis*. II. Purification and analysis of two antigenic components. *J.Immunol.* 98(6):1290-1300

JOHANSSON, S.G.O., BENNICH, H., WIDE, L. 1968a. A new class of immunoglobulin in human serum. *Immunol.* 14:265-272

JOHANSSON, S.G.O., MELLBIN, T., VAHLQUIST, B. 1968b. Immunoglobulin levels in Ethiopian preschool children with special reference to high concentration of immunoglobulin E (IgND). *Lancet* 1118-1121

JONES, W.E., SCHANTZ, P.M., FOREMAN, K., SMITH, L.K., WITTE, E.J., SCHOOLEY, D.E., JURANEK, D.D. 1980. Human toxocarasis in a rural community. *Am.J.Dis.Child.* 134:967-969

JOSEPHS, D.S., BHINDER, P., THOMPSON, A.R. 1981. The prevalence of *Toxocara* infection in a child population. *Publ.Hlth.* 95:273-275

JUNG, R.C., PACHERO, G. 1960. Use of hemagglutination test in visceral larva migrans. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 9:185-191

K

KAGAN, I.G., NORMAN, L., ALLAIN, R.S. 1959. Studies on the serology of visceral larva migrans. 1. Hemagglutination and flocculation tests with purified *Ascaris* antigens. *J.Immunol.* 83:297-301

- KAYES, S.G., OAKS, J.A.** 1976. Effects of inoculum size and length of infection on the distribution of *Toxocara canis* in the mouse. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 25(4):573-580
- KAZACOS, K.R.** 1983. Improved method for recovering ascarid and other helminth eggs from soil associated with epizootics and during survey studies. *Am.J.Vet.Res.* 44(5):896-900
- KAZACOS, K.R.** 1986. Raccoon ascarid as a cause of larva migrans. *Parasitol.Today* 2(9):253-255
- KENNEDY, M.W., MAIZELS, R.M., MEGHJI, M., YOUNG, L., QURESHI, R.M., SMITH, H.V.** 1987. Species-specific and common epitopes on the secreted and surface antigens of *Toxocara cati* and *Toxocara canis* infective larvae. *Paras.Immunol.* 9:407-420
- KHALIL, H.M., KHALED, M.L.M., HIFNY, O.F., BEBARS, M.** 1978. Examination of soil for *Toxocara canis* eggs in different Governorates of Egypt. *J.Egypt.Publ.Health Assoc.* 53(5-6):295-302
- KNAPEN, VAN.F., FRANCHIMONT, J.H.** 1979. Steam sterilisation of sandpits infected with *Toxocara* eggs. *Br.Med.J.* 6174:1320
- KNAPEN, VAN.F., LEUSDEN, VAN.F., BUYS, J.** 1982. Serodiagnosis of toxocaral larval migrans in monkeys by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) with somatic adult and secretory larval antigens. *J.Parasitol.* 68(5):951-952
- KNAPEN, VAN.F., LEUSDEN, VAN.J., POLDERMAN, A.M., FRANCHIMONT, J.H.** 1983. Visceral larva migrans: examinations by means of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of human sera for antibodies to excretory-secretory antigens of the second-stage larvae of *Toxocara canis*. *Z.Parasitenkd.* 69:113-118
- KNAUS, VON.B.U., BETKE, P.** 1986. Larva migrans visceralis - Vorkommen von *Toxocara canis* bei Hunden im DDR-Bezirk Cottbus. *Angew.Parasitol.* 27:169-173
- KNAUS, VON.B.U., LANGE, U., VOLOSIK, R.** 1987. Larva migrans visceralis - occurrence of ascarid eggs in sandboxes in the East German city of Cottbus. (A) *Angew.Parasitol.* 28:81-83
- KOJIMA, S., YOKOGAWA, M., TADA, T.** 1972. Raised levels of serum IgE in human helminthiases. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 21(6):913-918
- KOEHLER, VON.G., JORREN, R., KNAPEN, VAN.F.** 1980. Untersuchungen zur Kontamination von Spielkastensänden mit Eiern von Fleischfressaskariden. *Bundesgesundhbl.* 23(1-2):6-9
- L**
- LABORDE, C., BUSSIERAS, J., CHERMETTE, R.** 1980. Recherche des oeufs de *Toxocara spp.* dans le sol des jardins publics de Paris. Prophylaxie des infestations humaines. *Rec.Med.Vet.* 156(10):733-738
- LEE, K.T., MIN, H.K., SOH, C.T.** 1976. Transplacental migration of *Toxocara canis* larvae in experimental infected mice. *J.Parasitol.* 62(3):460-465
- LEWIS, E.A.** 1927. A study of the helminths of dogs and cats of Aberystwyth, Wales. *J.Helminthol.* 5(4):171-182
- LLOYD, S., SOULSBY, E.J.L.** 1983. Prenatal and transmammary infections of *Toxocara canis* in dogs: effects of benzimidazole-carbamate antihelminthic on various developmental stages of the parasite. *J.Small.Anim.Pract.* 24:736-768

LOEBENBERGER, D., WAITZ, J.A. 1977. Intestinal helminths and protozoa of New Jersey dogs. *J.Parasitol.* 63(6):1139-1140

LOOS-FRANK, B., ZEYHLE, E. 1982. The intestinal helminths of the red fox and some other carnivores in southwest Germany. *Z.Parasitenkd.* 67:93-113

LYNCH, N.R., WILKES, L.K., HODGEN, A.N., TURNER, K.J. 1988. Specificity of *Toxocara* ELISA in tropical populations. *Paras.Immunol.* 10:323-337

M

MADWAR, M.A., KABIL, S.M., HAMADTO, H.A.; FARRAGE, A.K.A. 1986. Prevalence of soil contamination by *Toxocara canis* eggs in Qalubiya governorate. *J.Egyptian Soc.Parasitol.* 16(1):105-109

MAGNAVAL, J.F. 1987. Eléments nouveaux dans la sémiologie des "larva migrans" viscérales. *Presse Med.* 16(4):151-154

MAGNAVAL, J.F. 1989. Application du dosage des IgE spécifiques et du Western-Blot au diagnostic immunologique de la toxocarose. Thèse n°79, Université Claude Bernard, Lyon 1.

MAGNAVAL, J.F., MARCHESSEAU, P., LARROUY, G. 1983. Les syndromes de larva migrans viscérale ascariidienne dans la région Midi-Pyrénées. *Bull.Soc.Pathol.Exotique.* 76:69-75

MAGNAVAL, J.F., GLICKMAN, L.T., GRIEVE, R.B., CARRIERE, G., DUBLY, E. 1986. Intérêt de l'immunoélectrophorèse utilisant des extraits d'organes génitaux d'*Ascaris suum* dans le diagnostic de la toxocarose. *Bull.Soc.Pathol.Exotique.* 79:634-641

MAIZELS, R.M., DE SAVIGNY, D.H., OGILVIE, B.M. 1984. Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. *Paras.Immunol.* 6:23-37

MALLOY, W.F., EMBIL, J.A. 1978. Prevalence of *Toxocara spp.* and other parasites in dogs and cats in Halifax, Nova Scotia. *Can.J.Comp.Med.* 42:29-31

MANN, P.H. 1955. Additional information pertaining to the incidence of heartworms and intestinal helminths in stray cats and dogs in Bergen County, northern New Jersey. *J.Parasitol.* 41:637

MANN, P.H., FRATTA, I. 1952. The incidence of coccidia, heartworm, and intestinal helminths in dogs and cats in northern New Jersey. *J.Parasitol.* 38:496-497

MAPLESTONE, P.A., MUKERJI, P.K. 1936. An improved technique for the isolation of *Ascaris* eggs from the soil. *Ind.J.Med.Res.* 23(3):667-672

MARMOR, M., GLICKMAN, L.J., SHOFER, F., FAICH, L.A., ROSENBERG, C., CORNBLATT, B., FRIEDMAN, S. 1987. *Toxocara canis* infection of children: epidemiologic and neuropsychologic findings. *Am.J.Publ.Health.* 77(3):554-559

MARRON, J.A.; SCHROEDER, R.J. 1978. Survey of *Toxocara canis* infection rate in impounded dogs in Los Angeles county. *J.Am.Vet.Med.Ass.* 172:713

MASTANDREA, G., MICARELLI, A. 1968. Ricerca parassitaria nei prodotti vegetali prelevati da alcune mercati rionali della città di roma. *Arch.It.Sci.Med.Trop.Parasitol.* 49:55-59

MATSUMURA, K., ENDO, R. 1982. Enzyme-linked immunosorbent assay for toxocarosis, its application to the sera of children. *Zbl.Bakt.Hyg.* 253(3):402-406

- MATSUMURA, K., ENDO, R.** 1983. Seroepidemiological study on toxocaral infection in man by enzyme-linked immunosorbent assay. *J.Hyg.* **90**:61-65
- MEGHJI, M., MAIZELS, R.M.** 1986. Biochemical properties of larval excretory-secretory glycoproteins of the parasitic nematode *Toxocara canis*. *Mol.Biochem.Parasitol.* **18**:155-170
- MELHORN, H.** 1988. Parasitology in focus. *Ed. H. Melhorn, Sprinter Verlag, Berlin.*
- MERCIER, R., LUND, H., BLOOMFIELD, R., CADWELL, F.** 1950. Larval ascariasis as a cause of chronic eosinophilia with visceral manifestations. *Amer.J.Dis.Child.* **80**:46-49
- MOK, C.H.** 1968. *Visceral larva migrans*. A discussion based on review of the literature. *Clin.Ped.* **7**:565-573
- MOLK, R.** 1983. Ocular toxocariasis: a review of literature. *Ann.Ophthalmol.* **15**:216-231
- MOORHOUSE, D.E.** 1982. Toxocariasis. A possible cause of the Palm Island mystery disease. *Med.J.Aust.* **1**(4):172-173
- MUNRO, R., MUNRO, H.M.** 1978. Intestinal helminthiasis in dogs in Fiji. *Aust.Vet.J.* **54**:44

N

- NAGAKURA, K., TACHIBANA, H., KANEDA, Y., KATO, Y.** 1989. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. *J.Infect.Dis.* **160**(4):735-736
- NICHOLAS, W.L., STEWART, A.C.** 1979. The action of benzimidazoles on the larval stage of *Toxocara canis* in the mouse. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* **73**(1):57-62
- NICHOLAS, W.L., STEWART, A.C., MITCHELL, G.F.** 1984. Antibody responses to *Toxocara canis* using sera from parasite-infected mice and protection from toxocariasis by immunisation with ES antigens. *Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci.* **62**:619-626
- NICHOLAS, W.L., STEWART, A.C., WALKER, J.S.** 1986. Toxocariasis: a serological survey of blood donors in the Australian capital territory together with observations on the risks of infection. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* **80**:217-221
- NICHOLS, R.L.** 1956. The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. *J.Parasitol.* **42**:349-362

O

- OLDHAM, J.N.** 1965. Observations on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* in dogs and cats from the London area. *J.Helminthol.* **39**:251-256
- OLIVER, S.T., COUSLAND, G., SMITH, H.V., GIRDWOOD, R.W.A.** 1986. Antibody isotype reactivity, isotype specific serodiagnosis and IgE antibody specificity in humans infected with *Toxocara canis* larvae. *Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* **80**:985
- OLSON, L.J.** 1960. Serology of visceral larva migrans: *in vitro* larval precipitate test. *Tex.Report.Biol.Med.* **18**:473-479

OLSON, L.J. 1962. Organ distribution of *Toxocara canis* larvae in normal mice and in mice previously infected with *Toxocara*, *Ascaris* or *Trichinella*. *Tex.Report.Biol.Med.* 20:651-657

ORR, T.S.C., BLAIR, A.M.J.N. 1969. Potentiated reagin response to egg-albumin and conalbumin in *Nippostrongylus brasiliensis* infected rats. *Life Sciences*, 8, part II, 1073.

OSHIMA, T. 1961a. Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations of the normal migration routes of the larvae. *J.Parasitol.* 47:652-656

OSHIMA, T. 1961b. Influence of pregnancy and lactation on migration of the larvae of *Toxocara canis* in mice. *J.Parasitol.* 47:657-660

OTT, R.A., STAPLES, M., WEEKLEY, M., MAGGIO, E.T. 1985. Demonstration of both immunologically unique and common antigenic determinants in *Dicrofilaria immitis* and *Toxocara canis* using monoclonal antibodies. *Vet.Immunol.Immunopathol.* 10:147-153

P

PALMIERI, J.R., THURMAN, J.B., ANDERSEN, F.L. 1978. Helminth parasites of dogs in Utah. *J.Parasitol.* 64(6):1149-1150

PARSON, J.C., GRIEVE, R.B. 1990. Effect of egg dosage and host genotype on liver trapping in murine larval toxocariasis. *J.Parasitol.* 76(1):53-58

PARSON, J.C., BOWMAN, D.D., GRIEVE, R.B. 1986. Tissue localization of excretory-secretory antigens of larval *Toxocara canis* in acute and chronic murine toxocariasis. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 35(5):974-981

PATTERSON, R., ROBERTS, M., SLONKA, G., McANINCH, J. 1975. Studies of immunoglobulins, bentonite flocculation and IgE, IgG and IgM antibodies in serum from patients with trichinosis. *Am.J.Med.* 58:787-793

PAUL, A.J., TODD, K.S., DIPIETRO, J.A. 1988. Environmental contamination by eggs of *Toxocara* species. *Vet.Parasitol.* 26:339-342

PAULIN, R., PIQUET, J., SECK, S., NDIAYE, M. 1981. Dosage radioimmunologique des IgE totales dans certaines helminthiases et protozooses. *Bull.Soc.Pathol.Exotique.* 74:649-658

PEGG, E.J. 1971. Infection of dogs by *Toxocara canis* carried by flies. *Parasitol.* 62:409-414

PEGG, E.J. 1975. Dog roundworms and public health. *Vet.Rec.* 97:78

POGLAYEN, G., RODA, R., RAVAIOLI, C., LEONI, B., GUBERTI, V. 1988. Aggiornamenti sulla diffusione dei parassiti di *Vulpes vulpes* in provincia di forlì. Implicazioni ecologiche e gestionali. *Ric.Biol.Selvaggina* 14(suppl):441-451

POLDERMANN, A.M., DE VRIES, H., WATER, VAN.D. 1980. Serological diagnosis of toxocariasis: the use of larval antigens in ELISA. *Acta Leiden.* 48:37-42

PORTUS, M., RIERA, C., PRATS, G. 1989. A serological survey of toxocariasis in patients and healthy donors in Barcelona (Spain). *Eur.J.Epidemiol.* 5(2):224-227

PREISSHOFEN, L., LAMINA, J. 1977. Larva-migrans-visceralis-Infektionen des Menschen in der Bundesrepublik durch *Toxocara*. *Muench.Med.Wschr.* 119(45):1471-1474

PROCIV, P. 1989. Observations on the post-mortem migration of nematode larvae and its role in tissue digestion technique. *J.Helminthol.* 63:281-286

PROCIV, P., BRINDLEY, P.J. 1986. Oral, parenteral and paratenic infections of mice with *Toxocara pteropodis*. *Int.J.Parasitol.* 16(5):471-474

PROKOPIĆ, J., FIGALLOVA, V. 1982. Migration of some roundworm species in experimentally infected white mice. *Folia Parasitol.* 29:309-313

PROKOPIĆ, J., KLABANOVA, A. 1980. Distribution of migrating larvae of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in various organs of experimentally infected mice. (CS) *Ceskoslovenská Epidemiologie of Mikrobiologie and immunology* 29(3):171-177

Q

QUINN, R., SMITH, H.V., BRUCE, R.G., GIRDWOOD, R.W.A. 1980. Studies on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* spp. ova in the environment. 1. A comparison of flotation procedures for recovering *Toxocara* spp. ova from soil. *J.Hyg.* 84:83-89

R

RADERMECKER, M., BEKHTI, A., PONCELET, E., SALMON, J. 1974. Serum IgE levels in protozoal and helminthic infections. *Int.Arch.Allergy.* 47:285-295

RAMP, T., ECKERT, J., GOTTSTEIN, B. 1987. Cryopreservation and long-term *in vitro* maintenance of second-stage larvae of *Toxocara canis*. *Parasitol.Res.* 73:165-170

READ, M.A., THOMPSON, R.C.A. 1976. Prevalence of *Toxocara canis* and *Toxascaris leonina* ova in dog faeces deposited on the street of Leeds. *J.Helminthol.* 50:95-96

REE, G.H., VOLLER, A., ROWLAND, H.A.K. 1984. Toxocarriasis in the British Isles 1982-3. *Br.Med.J.* 288:628-629

RICK, W. 1977. *Klinische Chemie und Mikroskopie.* Springer-Verlag, Berlin.

ROITT, I., BROSTOFF, J., MALE, D. 1985. *Immunologie fondamentale et appliquée.* 4ème Ed. Med.Sci.Intern., Paris.

RUITENBERG, E.J., PANGGABEAN, S.O., GELEIJNSE, M.E.M., VISSER, A., SLUITERS, J.F. 1976. Survey on the incidence of *larva migrans* in health primary schoolchildren (N). *NED.T.GENEESK.* 120(15):645-649

ROUMEAU-ROUQUETTE, C., BREART, G., PADIEU, R. 1970. *Méthodes en épidémiologie.* Flammarion Médecine-Sciences, Paris.

S

SALZER, B.F. 1916. A study of an endemic of fourteen cases of trichinellosis with cures by serum therapy. *J.Am.Med.Assoc.* 146:54-48

SAUCY, F. 1988. Dynamique des populations, dispersion et organisation sociale de la forme fousseuse du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*, Sherman (Shaw), Mammalia, Rodentia). Thèse, Faculté des Sciences, Université de Neuchâtel.

- SCHAFFERT, R.M., STRAUCH, D. 1978. Naturally infected dogs droppings from public parks and playgrounds as a possible source of infections with salmonellae and helminths. *Ann.Ist.Super.Sanita* 14:295-300
- SCHANTZ, P.M. 1989. *Toxocara larva migrans* now. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 41(3)suppl.:21-34
- SCHANTZ, P.M., GLICKMAN, L.T. 1978. *Toxocaral Visceral larva migrans*. *New Engl.J.Med.* 298:436-439
- SCHANTZ, P.M., GLICKMANN, L.T. 1979. Canine and human toxocariasis: The public health problem and the veterinarians role in prevention. *J.Vet.Med.Assoc.* 175(12):1270-1273
- SCHANTZ, P.M., STEHR-GREEN, J.K. 1988. *Toxocaral larva migrans*. *J.Am.Vet.Med.Ass.* 192(1):28-32
- SCHANTZ, P.M., MEYER, D., GLICKMAN, L.T. 1979. Clinical, serologic and epidemiologic characteristics of ocular toxocariasis. *Am.J.Trop.Med.Hyg.* 28(1):24-28
- SCHANTZ, P.M., WEISS, P.E., POLLARD, Z.F., WHITE, M.C. 1980. Risks factors for toxocaral ocular larva migrans. A case- control study. *Am.J.Publ.Health.* 70(12):1269-1272
- SHRAND, H. 1964. *Visceral larva migrans. Toxocara canis* infection. *Lancet* 1:1357-1359
- SINNAH, B. 1982. Daily egg production of *Ascaris lumbricoides*: The distribution of eggs in the faeces and the viability of egg counts. *Parasitol.* 84:167-175
- SMITH, H.V., QUINN, R., KUSEL, J.R., GIRDWOOD, R.W.A. 1981. The effect of temperature and antimetabolites on antibody binding to the outer surface of second stage *Toxocara canis* larvae. *Mol.Biochem.Parasitol.* 4:183-193
- SMITH, H.V., KUSEL, J.R., GIRDWOOD, R.W.A. 1983. The production of human A and B blood group like substances by in vitro maintained second stage *Toxocara canis* larvae: their presence on the outer larval surfaces and in their excretions/secretions. *Clin.Exp.Immunol.* 54:625-633
- SMITH, H.V., MAIZELS, R.M., KENNEDY, M.W., MEGHJI, M., INGLES, G. 1984. Monoclonal antibodies to *Toxocara canis* excretory/secretory antigens have human A blood group reactivity. *Parasitol.* 89:37-38
- SMITH, M.H.D., BEAVER, P.C. 1953. Persistence and distribution of *Toxocara canis* larvae in tissue of children and mice. *Ped.* 12:491-497
- SNOW, K.R., BALL, S.J., BEWICK, J.A. 1987. Prevalence of *Toxocara* species eggs in the soil of five east London parks. *Vet.Rec.* 120(3):66-67
- SNYDER, H.C. 1961. *Visceral larva migrans*. Ten years' experience. *Ped.* 28:85-91
- SOLDATI, G. 1972. Canine helminthiasis: coprological survey of dogs in Modena. (I) *Parassitol.* 14(1):199-205
- SPEISER, F., GOTTSTEIN, B. 1984. A collaborative study on larval excretory/secretory antigens of *Toxocara canis* for the immunodiagnosis of human toxocariasis with ELISA. *Acta Trop.* 41:361-372
- SPEISER, F., WEISS, N. 1979. Comparative evaluation of 7 helminth antigens in the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Experient.* 35:1512-1514

- SPINDLER, L.A.** 1929. On the use of a method for isolation of *Ascaris* eggs from soil. *Am.J.Hyg.* 10:157-164
- SPRENT, J.F.A.** 1958. Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitol.* 48:184-209
- STONE, W.M., SMITH, F.W.** 1973. Infection in mammalian hosts by milk-borne nematode larvae: a review. *Exp.Parasitol.* 34:306-312
- STOYE, VON.M.** 1976a. Uebersichtsreferat: Praenatale und galaktogene Helmintheninfektionen bei Haustieren. *Dtsch.Tierarztl.Wschr.* 83(12):515-586
- STOYE, VON.M.** 1976b. Galaktogene und präinatale infektionen mit *Toxocara canis* beim Hund (Beagle). *Dtsch.Tierarztl.Wschr.* 83:89-126
- STOYE, VON.M.** 1979. Spul- und Hakenwuermer des Hundes - Entwicklung, Epizootologie, Bekaempfung. *Berl.Muench.Tieraerztl.Wschr.* 92:464-472
- STURCHLER, D., BRUPPACHER, R., SPEISER, F.** 1986. Epidemiologische Aspekte der Toxokariosis in der Schweiz. *Schweiz.Med.Wschr.* 116(33):1088-1093
- STUERCHLER, D., PETER, R.** 1981. Parasitosen bei Schulkindern in einem schweizer Juradorf. *Soz.Praev.Med.* 26:317-319
- STYLES, T.J.** 1967. Incidence of *Toxocara canis* and other helminth parasites of dogs in Mexico city. *J.Parasitol.* 53(4):822-823
- SUGANE, K., OSHIMA, T.** 1983. Purification and characterization of excretory and secretory antigen of *Toxocara canis* larvae. *Immunol.* 50:113-120
- SUGANE, K., OSHIMA, T.** 1984. Interrelationship of eosinophilia and IgE antibody production to larval ES antigen in *Toxocara canis* infected mice. *Paras.Immunol.* 6(5):409-420
- SURGAN, M.H., COLGAN, K.B., KENNETT, S.I., PAFFMANN, J.V.** 1980. A survey of canine toxocarosis and toxocaral soil contamination in Essex county, New Jersey. *Am.J.Publ.Health.* 70(11):1207-1208
- T**
- TAYLOR, M.R.H., KEANE, C.T., O'CONNOR, P., MULVIHILL, E.** 1988. The expanded spectrum of toxocaral disease. *Lancet* 1:692-694
- TETTAMANTI, S.** 1971. La toxocarose humaine existe-t-elle en Suisse? Bâle: Institut Tropical
- TETTAMANTI, S., BOUNAMEAUX, Y., SUTER-KOPP, V.** 1972. La toxocarose humaine en Suisse. Son diagnostic par immunofluorescence indirecte. *Schweiz.Med.Wschr.* 102(32):1117-1124
- THOMPSON, D.E., BUNDY, D.AP., COOPER, E.S., SCHANTZ, P.M.** 1986. Epidemiological characteristics of *Toxocara canis* zoonotic infection of children in a Caribbean community. *World Hlth.Org.* 64(2):283-290
- TOENZ, M., SPEISER, F., TOENZ, O.** 1983. Toxocarosis bei schweizer Kindern. *Schweiz.Med.Wschr.* 113:1500-1507

TULLIS, D.CH. 1970. Bronchial asthma associated with intestinal parasites. *New Engl.J.Med.* 282:370-372

TURNER, K.J., PEGG, E. 1977. A survey of patent nematode infestation in dogs. *Vet.Rec.* 100:284-285

U

UNRUH, D.H.A., KING, J.E., EATON, R.D.P., ALLEN, J.R. 1973. Parasites of dogs from Indian settlements in Northwestern Canada: a survey with public health implications. *Can.J.Comp.Med.* 37:25-32

V

VALKOUNOVA, J. 1982. Parasitological investigation of children's sand boxes and dog faeces from public areas in old housing districts of Prague. *Folia Parasitol.* 29:25-32

VIENS, P. 1977. La "larva migrans viscerale" à Montréal ou le sommet de l'iceberg. *Bordeaux Med.* 10:697-698

VIENS, P., STRYKOWSKI, H., RICHARDS, R., SONEA, S. 1975. A modified immunofluorescent antibody technique for the serodiagnosis of human toxocaral larva migrans. *Can.J.Public Health.* 66: 237-240

VOLLER, A., BIDWELL, D.E., BARTLETT, A. 1979. The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate applications. Nuffield Laboratories of Comparative Medicine, The Zoological Society of London, Regent's Park, London.

VOSSMANN, T., STOYE, VON.M. 1986. Klinische, hämatologische und serologische Befunde bei Welpen nach pränataler Infektion mit *Toxocara canis* Werner 1782 (*Anisakidae*). *J.Vet.Med.* 33:574-585

W

WARREN, E.G. 1969. Infections of *Toxocara canis* in dogs fed infected mouse tissues. *Parasitol.* 59:837-841

WEBSTER, G.A. 1958. A preliminary report on the biology of *Toxocara canis* (Werner,1782). *Can.J.Zool.* 36:435-440

WESTON, R. 1975. Endoparasites in dogs supplied for laboratory use. *J.Inst.Anim.Tech.* 26(2):69-77

WIEGAND, VON.D., KRUG, W. 1986. Ecological and epidemiological studies on the fox population in an agricultural district of Mid-Hessen. (D) *Tieraerztl.Umsch.* 41:950-952

WILDER, H.C. 1950. Nematode endophthalmitis. *Tr.Amer.Acad.Ophthalmol.* 55:99-102

WILLIAMS, R.W., MENNING, E.L. 1961. Intestinal helminths in dogs and cats of the Bermuda Island and their potential public health significance, with a report of a probable case of visceral larva migrans. *J.Parasitol.* 47:947-951

WISEMAN, R.A., WOODRUFF, A.W. 1970. Evaluation of a skin sensitivity test for the diagnosis of toxocarasis. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 64(2):239-245

WISEMANN, R.A., WOODRUFF, A.W. 1968. Toxocariasis in Britain as revealed by skin sensitivity tests. *Br.Med.J.* 1:677-678

WISEMANN, R.A., WOODRUFF, A.W. 1971. Toxocariasis in Africa and Malta. The frequency of infection in hosts animals and its incidence and distribution in humans as revealed by skin sensitivity tests. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 65(4):439-449

WISEMAN, R.A., WOODRUFF, A.W., PETTITT, L.E. 1969. Further *Toxocara* skin sensitivity tests in animals experimentally infected with *Toxocara canis*. *Trans.Royal.Soc.Trop.Med.Hyg.* 63(2):246-250

WOODRUFF, A.W. 1970. Toxocariasis. *Br.Med.J.* 1:663-669

WOODRUFF, A.W. 1975. *Toxocara canis* and other nematodes transmitted from dogs to man. *Br.Vet.J.* 131:627-632

WOODRUFF, A.W., SHAH, I.A. 1976. Improved method of recovering *Toxocara* species ova from soil. *Br.Med.J.* 3:621-622

WOODRUFF, A.W., DE SAVIGNY, D.H., JACOBS, D.E. 1978. Study of toxocaral infection in dog breeders. *Br.Med.J.* 6:1747-1748

WOODRUFF, A.W., SALIH, S.Y., DE SAVIGNY, D., BAYA, E.I., SHAH, A.I. 1981a. Toxocariasis in the Sudan. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 75(5):559-561

WOODRUFF, A.W., WATSON, J., SHIKARA, I., AL AZZI, N.S.H., AL HADITHI, T.S., AL ADHAMI, S.B.H., WOODRUFF, P.W.R. 1981b. *Toxocara* ova in soil in the Mosul District, Iraq, and their relevance to public health measures in the Middle East. *Ann.Trop.Med.Parasitol.* 75(5):555-557

WORLEY, G., GREEN, J.A., FROTHINGHAM, T.E., STURNER, R.A., WALLS, K.W., PAKALNIS, V.A., ELLIS, G.S. 1984. *Toxocara canis* infection: clinical and epidemiological associations with seropositivity in kindergarten children. *J.Infect.Dis.* 149(4):591-597

Y

YAMPOLSKAYA, O.V., ALEKSEEVA, M.I. 1980. Clinical and immunological parallel in human *Toxocara* infection. *Immunodiag.Tropich.Parazytarn.Boleznei* 234:83-88

YANG, J. 1982. Antigen specificity in ELISA of somatic extracts and metabolic products from *Toxocara*, *Ascaris* and *Trichinella*. *Mol.Biochem.Parasitol.* 237-230

YANG, J., KENNEDY, M.T. 1979. Value of enzyme-linked immunosorbent test (ELISA) in the detection of visceral larva migrans (VLM). *Can.J.Publ.Health.* 70:58

YANG, J., SCHOLTEN, TH., LIEM, T.J., CASSIDY, H.J. 1979. Prevalence of intestinal parasites of dogs in Metropolitan Toronto, Ontario. *Can.J.Publ.Health.* 70:56

YANG, J., KEYSTONE, J.S., MCINTYRE, L., SPENCE, H. 1982. *Toxocara* antibodies in veterinary personnel. *Can.Vet.J.* 23:126-128

Z

ZAHNER, H., FAILING, K., KRAUSS, H., ARENS, M., HAMMES, H. 1981. Ein Beitrag zur stufenlosen Antikörpersbestimmung mit dem "Enzyme Linked Immunosorbent Assay" (ELISA). *Immun.Infekt.* 9:33-39

ZHAROVA, V.V. 1978. Résultats d'examens helminthologiques des bacs à sable pour enfants et du sol environnant. *Helm.Abs.* 47:1257

ZINKHAM, W.H. 1978. Visceral larva migrans: A review and reassessment indicating two forms of clinical expansion: visceral and ocular. *Am.J.Dis.Child.* 132:627-633

ZUELZER, W.W., APT, L. 1949. Disseminated visceral lesions associated with extreme eosinophilia. *Amer.J.Dis.Child.* 78:153-155

ZYNGIER, F.R. 1976. Ascariasis and toxocariasis. II. Difficulties in the differential serological diagnosis employing a *Toxocara canis* antigen. *Rev.Inst.Med.Sao Paulo* 18(6):427-432