

Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une microméthode modifiée

2. Résultats pour la toxoplasmose, l'amibiase, la trichinose, l'hydatidose et l'aspergillose

PIERRE AMBROISE-THOMAS,¹ PIERRE T. DESGEORGES,² & D. MONGET³

Une microméthode immuno-enzymologique (ELISA) utilisée depuis 1976 pour le sérodiagnostic de maladies parasitaires semble présenter une valeur particulière. Différents contrôles au moyen de tests sérologiques comparatifs ont confirmé son excellente spécificité. En outre, son extrême sensibilité permet l'usage de quantités infimes de réactifs antigéniques. Les résultats obtenus demandent néanmoins à être encore vérifiés à partir de séries plus nombreuses d'examen.

Dans l'histoire de chaque nouveau test sérologique, les applications parasitologiques ont généralement été parmi les dernières. C'est au contraire en parasitologie que le test ELISA a trouvé quelques-unes de ses premières et meilleures indications (10, 15), sa sensibilité élevée lui permettant d'être réalisé avec d'infimes quantités de réactifs antigéniques. Depuis 1976, nous avons pu appliquer cette réaction à dix parasitoses différentes et c'est sa valeur diagnostique pour cinq d'entre elles (toxoplasmose, amibiase, trichinose, hydatidose et aspergillose) que nous présentons ici.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Test ELISA

Il a été réalisé suivant les modalités décrites précédemment (3).

Les antigènes suivants ont été utilisés: *Toxoplasma gondii*, antigène soluble, Institut Pasteur; *Entamoeba histolytica*, antigène soluble, Behring; *Trichinella spiralis*, antigène préparé à l'Institut national de Santé publique, Bilthoven, Pays-Bas; *Echinococcus granulosus*, liquide hydatique recueilli chez des moutons parasités et contrôlé par immunoélectro-

phorèse; *Aspergillus fumigatus*, antigène somatique, extrait de cultures.

Pour chacune des cinq parasitoses, les sérums étudiés ont été prélevés chez des patients suivis sur le plan clinique et parasitologique. Testés en ELISA aux dilutions 1/20, 1/40 etc..., tous ces sérums ont été parallèlement étudiés par un ou plusieurs autres tests sérologiques (immunofluorescence indirecte, hémagglutination conditionnée, immunoélectrophorèse).

Pour les contrôles, on a utilisé dans chaque cas 25 sérums de sujets sains (témoins négatifs) et, pour l'étude des réactions croisées, 18 à 26 sérums prélevés chez des malades atteints de diverses parasitoses profondes (tableau 1).

Tests sérologiques comparatifs

Immunofluorescence indirecte. Suivant une technique classique (1), cette réaction a été pratiquée sur tous les sérums étudiés. Comme antigène, on a utilisé suivant les cas des suspensions parasitaires (*T. gondii*, *E. histolytica*) ou des coupes à la congélation (muscles de rats parasités par *T. spiralis*, scolex d'*E. granulosus* provenant de sable hydatique, reins de lapins inoculés avec *A. fumigatus*).

Hémagglutination indirecte, double diffusion en gélose et immunoélectrophorèse. Ces tests ont été utilisés respectivement pour l'amibiase (réactifs Behring) et pour l'aspergillose pulmonaire (antigène somatique préparé au laboratoire).

¹ Professeur de parasitologie à la Faculté de Médecine de Grenoble, France.

² Assistant de parasitologie à la Faculté de Médecine de Grenoble, France.

³ Laboratoire de Biologie, Institut national des Sciences appliquées, Villeurbanne, France.

Tableau 1. Contrôles de spécificité: nature et nombre des sérums étudiés face à chacun des 5 antigènes parasitaires

Sérums	Antigènes				
	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Paludisme	7	7	1	1	1
Amibiase	7		1	1	1
Toxoplasmose		6	1	1	1
Ascarirose	1	1	5	5	1
Toxocarose	1		4	2	1
Trichinose	1	1		2	1
Filariose (loase)	1	2	5	4	1
Fasciolase	1		2	2	
Clonorchiasse			1		
Bilharziose intestinale	1	1	2	4	1
Hydatidose	1	1	2		1
Aspergillose	1	2	1		
Candidoses	1	2	1	1	8
Cryptococcose					1
Total	23	23	26	23	18

RÉSULTATS

Contrôles de spécificité

Des contrôles (antigènes + substrat ou antigènes + conjugué anti-globulines + substrat) ont été régulièrement réalisés à chaque série d'examen. On n'a jamais observé dans ces cas des densités optiques (DO) dépassant 0,02.

Le tableau 2 rapporte par ailleurs les résultats des contrôles de spécificité avec les différents sérums témoins hétérologues dilués à 1/20. Les DO correspondantes sont toutes très inférieures à celles que l'on observe avec les moins positifs des sérums homologues. Ceci, pour les systèmes antigène-anticorps explorés, traduit une bonne spécificité de la technique. Une importante exception concerne cependant les DO élevées (0,72 à 1,20) obtenues avec quatre sérums de loase face à l'antigène *E. granulosus*. Cette constatation demeure actuellement inexplicable si l'on considère les très faibles similitudes antigéniques entre *Loa loa* et *E. granulosus*, avec lequel des parasites zoologiquement et antigéniquement beaucoup plus proches (*Fasciola hepatica*, *Schistosoma mansoni*) n'ont donné que de faibles réactions croisées (DO entre 0,08 et 0,28).

Il a été impossible de vérifier que les Africains chez lesquels les sérums anti-*Loa loa* avaient été prélevés étaient bien indemnes de toute hydatidose.

Tous les sérums utilisés pour les contrôles de spécificité ont été par ailleurs étudiés à la dilution de 1/80. Les DO maximales correspondantes sont indiquées dans le tableau 3.

Présentation des résultats

Le test ELISA permet un double système de représentation des résultats que nous avons utilisé pour les cinq parasitoses étudiées.

Titre final de positivité. Déterminé à partir d'une gamme de dilutions (1/20, 1/40 etc...) des sérums testés, ce titre correspond à l'inverse de la plus forte dilution donnant encore un résultat positif, c'est-à-dire une DO supérieure à la plus forte DO observée avec les sérums de contrôle dilués à 1/20.

Densité optique mesurée pour une seule dilution. Ce type de mesure a l'avantage de permettre un important gain de temps et de réactifs. Il présente en revanche certains inconvénients que nous envisagerons plus loin. Comme dilution unique, nous avons choisi 1/80 qui paraît écarter le plus grand

Tableau 2. Moyennes et valeurs extrêmes des densités optiques mesurées avec les sérums hétérologues de contrôle dilués à 1/20

Sérums	Antigènes				
	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
Paludisme	0,11 (0,09 à 0,23)	0,05 (0 à 0,08)	0,03 ^a	0,23 ^a	0 ^a
Amibiase	0,11 (0,03 à 0,18)		0,03 ^a	0,10 ^a	0,02 ^a
Toxoplasmose		0,04 (0 à 0,10)	0,02 ^a	0,08 ^a	0,04 ^a
Ascariidose	0,14 ^a	0,04 ^a	0,03 (0,02 à 0,04)	0,12 (0,09 à 0,23)	0,04 ^a
Toxocarose	0,14 ^a		0,03 (0,02 à 0,04)	0,20 (0,18 à 0,23)	0,04 ^a
Trichinose	0,16 ^a	0,03 ^a		0,09 (0,08 à 0,10)	0,04 ^a
Filariose (loase)	0,14 ^a	0,02 (0,01 à 0,03)	0,14 (0 à 0,38)	0,84 (0,72 à 1,20)	0,01 ^a
Fasciolase	0,13 ^a		0,32 (0,29 à 0,43)	0,14 (0,10 à 0,18)	
Clonorchiose			0,08 ^a		
Bilharziose intestinale	0,07 ^a	0,15 ^a	0,03 (0,03 à 0,04)	0,12 (0,08 à 0,28)	0,02 ^a
Hydatidose	0,22 ^a	0,16 ^a	0,03 (0,03 à 0,04)		0 ^a
Aspergillose	0,18 ^a	0,09 (0,04 à 0,15)	0,02 ^a		
Candidoses profondes	0,16 ^a	0,01 (0 à 0,03)	0 ^a	0,10 ^a	0,03 (0 à 0,06)
Cryptococcose					0,03 ^a

^a Valeur unique.

nombre de réactions croisées. Comme seuil acceptable de spécificité, on a retenu dans chaque cas une DO supérieure de 0,02 aux DO maximales observées avec les sérums hétérologues.

Tableau 3. Valeurs maximales des densités optiques (DO) obtenues dans les contrôles de spécificité avec les sérums hétérologues dilués à 1/80

Antigènes	DO maximales avec les sérums hétérologues dilués
<i>Toxoplasma gondii</i>	0,12
<i>Entamoeba histolytica</i>	0,18
<i>Trichinella spiralis</i>	0,08
<i>Echinococcus granulosus</i>	0,39
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,14

Toxoplasmose (tableau 4)

Dans l'ensemble, l'immunofluorescence indirecte (IFI) et le test ELISA fournissent des résultats comparables, surtout si l'on rapproche les titres d'anticorps fluorescents et les DO (Fig. 1). Cette constatation rejoint celle d'autres auteurs et notamment de Walls et al. (16), Bout et al. (5) et Voller et al. (13).

En principe, celle-ci laisse bien augurer de la valeur de l'ELISA pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose humaine mais avec cependant diverses réserves. Il est en effet toujours hasardeux de vouloir comparer des méthodes faisant appel à des antigènes très différents: parasites entiers pour l'IFI qui explore par conséquent surtout les antigènes de surface; extraits antigéniques « solubles » pour le test ELISA. En ce qui concerne cette dernière réaction, les résultats obtenus sont bien entendu

Tableau 4. Toxoplasmose : comparaison de l'immunofluorescence indirecte (IFI) et de l'ELISA

	IFI		ELISA (10 µg d'antigène/ml)	
	Titre		DO ^a	
Toxoplasmoses anciennes	1/20	1/320	0,27	
	1/20	1/320	0,31	
	1/20	1/320	0,27	
Toxoplasmoses évolutives	1/200	1/320	0,26	
	1/200	1/20	0,09	
	1/200	1/80	0,20	
	1/200	1/320	0,46	
	1/400	1/80	0,21	
	1/400	1/320	0,22	
	1/400	1/320	0,30	
	1/800	1/320	0,25	
	1/800	1/80	0,20	
	1/800	1/320	0,34	
	1/1200	1/5120	0,85	
	1/800	1/80	0,20	
	1/1600	1/1280	0,34	
	1/3200	1/5120	0,60	
	1/3200	1/1280	0,62	

^a Mesurée à la dilution de 1/80 des sérums ; limite de spécificité : DO = 0,14.

Tableau 5. Amibiase : comparaison de l'immunofluorescence indirecte (IFI), de l'hémagglutination conditionnée (IHA) et de l'ELISA

Sérums	IFI	IHA	ELISA Peroxydase, Orthotolidine (5 µg d'antigène/ml)	
			Titre	Densité optique au 1/80 ^a
Amibiases anciennes	1/50	1/320	1/20	0,14
	1/50	1/64	0	0,04
	1/50	1/256	0	0,07
	1/50	1/16	1/20	0,12
	1/50	1/16	1/20	0,09
Amibiases intestinales	1/100	1/128	1/80	0,24
	1/100	1/128	1/320	0,46
	1/100	1/32	1/80	0,31
	1/100	1/16	0	0,05
	1/200	1/16	1/20	0,10
	1/200	0	1/20	0,15
	1/200	1/512	1/80	0,34
	1/200	1/512	1/80	0,34
Amibiases hépatiques	1/400	1/32768	1/1280	0,85
	1/400	1/4096	1/320	0,78
	1/400	1/284288	1/1280	1,40
	1/800	1/16	1/80	0,45
	1/800	1/64	1/80	0,21

^a Limite de spécificité : DO = 0,18.

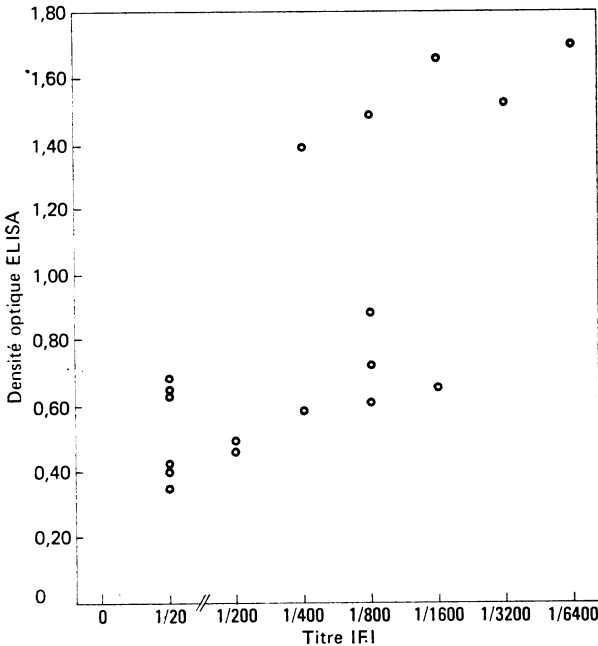


Fig. 1. Sérodiagnostic de la toxoplasmose : résultats comparés de l'ELISA et de l'immunofluorescence indirecte.

fonction du type d'antigène employé, comme cela est également le cas pour l'hémagglutination conditionnée et pour la fixation du complément.

Sur la base de ces résultats préliminaires encourageants, une étude plus complète est actuellement en cours pour explorer, en ELISA, différents types d'antigènes ou de fractions antigéniques solubles et aboutir à une expression des résultats en unités internationales.

Amibiase (tableau 5)

Des études préliminaires sur l'application du test ELISA en amibiase ont été réalisées notamment par Bos et al. (4) et par Voller et al. (14). D'après ces derniers auteurs, la réaction aurait surtout une valeur diagnostique intéressante dans les atteintes hépatiques. C'est ce que semble confirmer nos propres résultats. Notre étude a en effet porté sur trois catégories de sérums, respectivement prélevés dans des cas d'amibiases anciennes, dans des formes intestinales pures ou dans des amibiases hépatiques associées ou non à une atteinte colique. En ELISA, les résultats sont habituellement négatifs dans les amibiases anciennes, surtout si l'on considère la densité optique après dilution au 1/80 des sérums.

Tableau 6. Trichinose: comparaison de l'immunofluorescence indirecte (IFI) et de l'ELISA

Sérum	IFI	ELISA (5 µg d'antigène/ml)	
		Titre	Densité optique au 1/80 ^a
Trichinoses probables	1/10	1/80	0,14
	1/20	0	0,01
	0	1/80	0,20
	0	1/80	0,13
	1/80	0	0,03
	1/20	1/80	0,09
	1/40	1/80	0,08
	1/20	0	0,03
	1/20	1/320	0,14
	1/40	1/1280	0,21
	1/40	1/80	0,08
	1/20	0	0,01
Trichinoses humaines prouvées	1/20	1/5120	0,10
	1/20	1/5120	0,43
	1/160	1/5120	0,80

^a Limite de spécificité: DO = 0,10.

Le test est à cet égard relativement proche de l'IFI (atteignant tout juste la limite de spécificité de 1/50) et s'oppose au contraire à l'IHA qui tend à rester longtemps positive, même dans les formes anciennes. Pour les amibiases purement intestinales, les résultats de l'ELISA ne sont qu'inconstamment et de toute façon modérément positifs. Là aussi, la similitude avec les données de l'immunofluorescence indirecte est parfaite. Enfin, dans les amibiases hépatiques, les titres et surtout les densités optiques observées sont particulièrement élevés. Le test prend donc toute sa valeur lorsqu'il s'agit de reconnaître des localisations viscérales — hépatiques en particulier — où la sérologie est d'autant plus précieuse que les investigations parasitologiques sont généralement en défaut.

Trichinose (tableau 6)

Compte tenu de la rareté de la trichinose humaine et porcine en France, nos résultats sont évidemment bien moins nombreux que ceux présentés par d'autres auteurs et notamment Engvall et al. (7) et surtout Ruitenberget al. (11, 12).

Pour notre part, nous n'avons pu étudier que 15 sérums correspondant à 3 cas humains de trichinose prouvée et à 12 suspicions de trichinose (épidémiologie, clinique, hyperéosinophilie sanguine, résultats en immunofluorescence indirecte).

Il n'existe pas de correspondance nette entre les résultats de l'immunofluorescence indirecte et ceux

Tableau 7. Hydatidose: comparaison de l'immunofluorescence indirecte (IFI) et de l'ELISA

Sérum	IFI	ELISA Peroxidase, Orthotolidine (2 µg d'antigène/ml)	
		Dilution	Densité optique au 1/80 ^a
Hydatidoses probables	1/10	1/80	0,45
	1/10	1/320	1,38
	1/20	1/20	0,28
Hydatidoses hépatiques confirmées	1/20	1/1280	1,37
	1/20	1/320	1,40
	1/40	1/80	0,75
	1/40	1/1280	1,30
	1/40	1/1280	1,45
	1/80	1/5120	1,40
	1/80	1/1280	1,32
	1/80	1/1280	1,25
	1/80	1/320	1,15
	1/80	1/1280	1
	1/160	1/5120	1,10
	1/160	1/320	0,98
1/320	1/5120	1,35	
1/640	1/5120	1,32	

^a Limite de spécificité: DO = 0,41.

du test ELISA. Ce dernier paraît cependant présenter une valeur diagnostique considérablement plus élevée que la recherche des anticorps fluorescents. Il faut en effet remarquer que, dans les trois cas de trichinose prouvée, les titres et les DO sont très élevés en ELISA alors que les résultats de l'IFI n'atteignent que juste la limite de spécificité dans deux cas et, pour le troisième sérum, ne présentent qu'une positivité relativement modérée (1/160).

Hydatidose (tableau 7)

Actuellement, il semble que les seules applications de l'ELISA au sérodiagnostic de l'hydatidose aient été publiées par Bout et al. (5) et par Farag et al. (8).

Nos résultats concernent 3 hydatidoses probables et 14 hydatidoses hépatiques prouvées. Ils confirment la valeur du test ELISA qui, dans tous les cas confirmés, donne des titres d'anticorps et des DO très élevés. Ceci laisse particulièrement bien augurer de la valeur diagnostique du test, qui n'exige que d'infimes quantités d'antigène hydatique (2µg/ml).

Aspergillose (tableau 8)

Le diagnostic sérologique de l'aspergillose est souvent difficile dans la mesure où des tests comme l'immunofluorescence indirecte sont exposés à des

Tableau 8. Aspergillose: comparaison de l'immunofluorescence indirecte (IFI), de l'immunodiffusion suivant la technique d'Ouchterlony (ID), de l'immunoélectrophorèse (IEP) et de l'ELISA

Sérums	IFI	ID	IEP	ELISA (5 µg d'antigène/ml)	
	Titre	Nombre d'arcs	Nombre d'arcs	Titre	Densité optique au 1/80 ^a
Suspensions d'aspergillose	1/20	0	0	1/20	0,12
	1/20	0	0	1/20	0,08
	1/20	0	0	1/20	0,07
	1/40	0	0	1/20	0,02
	1/40	1	1	1/20	0,04
Aspergilloses pulmonaires confirmées	1/80	0	0	1/320	0,70
	1/80	3	3	1/320	1,30
	1/80	0	0	1/5120	0,30
	1/160	0	0	1/1280	0,90
	1/40	5	3	1/80	1,05
	1/80	3	3	1/320	1,30
	1/160	5	4	1/1280	1,18
	1/160	4	3	1/1280	1,20
	1/160	4	4	1/320	0,80
	1/160	6	3	1/1280	1,10
	1/320	2	3	1/1280	0,85
	1/320	5	5	1/1280	0,85
	1/320	10	8	1/1280	1,20
	1/640	7	7	1/1280	1,02
	1/640	7	7	1/1280	1,10

^a Limite de spécificité: DO = 0,16.

risques d'erreurs par excès (réactions faussement positives) et que, inversement, l'immunodiffusion (Ouchterlony) ou l'immunoélectrophorèse sont d'interprétation indiscutable quand elles sont positives mais restent exposées à des erreurs par défaut (résultats faussement négatifs).

Ceci rend donc très souhaitable l'apport de nouveaux tests, et Hommel et al. (9) ont rapporté l'intérêt du test ELISA. Nos résultats — pour 5 suspicions d'aspergillose et 15 aspergilloses pulmonaires vérifiées — confirment absolument ces conclusions. La réaction ELISA est en effet, dans tous les cas prouvés, intensément positive aussi bien en titres qu'en DO à la dilution de 1/80. Ce résultat paraît d'autant plus remarquable que pour un de ces sérums l'IFI n'est que faiblement positive (1/20), voisine de sa limite de spécificité, et que dans 3 cas l'immunodiffusion et l'immunoélectrophorèse ont été totalement négatives.

CONCLUSION

Dans l'ensemble, le test ELISA constitue indiscutablement un apport extrêmement prometteur pour le sérodiagnostic des maladies parasitaires. Les résultats obtenus demandent néanmoins à être encore vérifiés à partir de séries plus nombreuses d'examen

et pour différentes formes cliniques de chaque parasitose (hydatidoses hépatiques ou pulmonaires, par exemple). En fait, le principal point à préciser concerne les antigènes employés. Dans la mesure, en effet, où le test fait appel à des extraits parasitaires dont la nature et la qualité peuvent varier largement, il importe de définir exactement les caractéristiques des meilleurs antigènes et, quand cela est possible, de préciser les résultats obtenus à partir de fractions antigéniques spécifiques de chaque parasite. Jusqu'ici, l'emploi de tels antigènes en pratique diagnostique constituait plus un espoir qu'une réalité accessible à un grand nombre de laboratoires. Cette situation est maintenant totalement modifiée par un test comme l'ELISA qui, contrairement aux titrages radio-immunologiques, n'exige aucun réactif ou appareillage particulier et dont l'extrême sensibilité permet néanmoins l'usage d'infimes quantités d'antigènes.

Une autre perspective intéressante est apportée par la possibilité de mesurer la densité optique pour une seule dilution des sérums étudiés. Ceci entraîne un gain considérable de temps et de réactifs et peut théoriquement fournir une notion quantitative plus exacte que les habituelles gammes de dilution. Dans ce domaine, une prudence certaine est cependant encore nécessaire. En effet, comme le soulignent

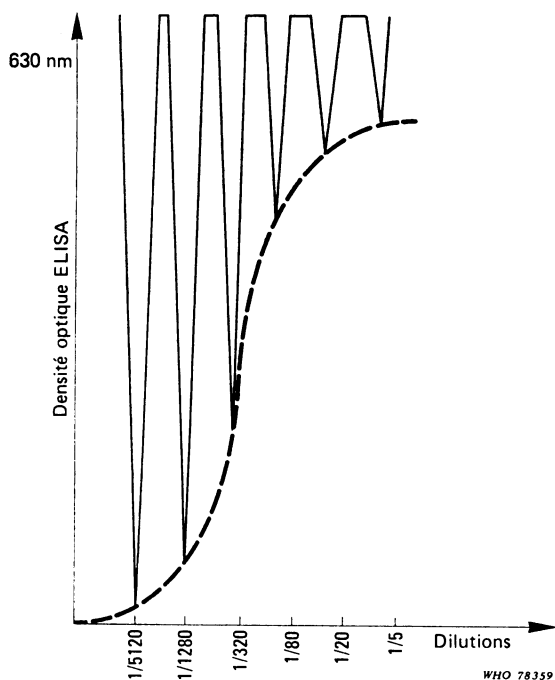


Fig. 2. Courbe des densités optiques en fonction de la dilution.

Bullock & Walls (6) et ainsi que le confirment pleinement nos résultats, les DO mesurées pour différentes dilutions d'un sérum se répartissent sur

une sinusoïde et non pas sur une droite (Fig. 2). Il est donc impossible de déduire le titre final (inverse de la plus forte dilution encore positive) d'un sérum à partir de la DO mesurée pour une dilution donnée. En outre, dans chaque système antigène-anticorps, le choix de la dilution retenue pour l'unique mesure de DO est absolument fondamental et ne peut résulter de données empiriques. Une première solution, proposée d'ailleurs par Bullock & Walls (6), est de mesurer les DO de trois dilutions différentes et suffisamment espacées pour couvrir respectivement trois secteurs de la sinusoïde (courbe des DO en fonction de la dilution). Une autre possibilité — que nous étudions actuellement pour la toxoplasmose — est de réaliser une véritable gamme d'étalonnage au sens colorimétrique du terme, avec les DO obtenues à partir de solutions contenant un nombre variable d'unités internationales anti-toxoplasmes. En rapportant à ce graphique la DO d'un sérum à une dilution donnée, il semble que l'on puisse avec une précision très satisfaisante en déduire le nombre d'unités internationales contenues dans ce sérum. Bien évidemment, une telle solution n'est actuellement envisageable que pour la toxoplasmose, qui est la seule parasitose pour laquelle on dispose de sérums étalons titrés en unités internationales. Si nos résultats en ELISA se trouvaient confirmés, ils apporteraient un nouvel argument en faveur de l'adoption, pour toutes les parasitoses, de sérums de référence contenant un nombre connu d'unités internationales.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement le Professeur Michel Quilici de la Faculté de Médecine de Marseille, qui a bien voulu mettre à notre disposition, dans notre étude, les antigènes hydatiques et une partie des immunosérums correspondants. Enfin, ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de M^{lle} M. M. Lombard.

SUMMARY

DIAGNOSIS OF PARASITIC DISEASES BY ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY (ELISA) WITH A MODIFIED MICROMETHOD: RESULTS FOR TOXOPLASMOSIS, AMOEBIASIS, TRICHINOSIS, HYDATIDOSIS, AND ASPERGILLOSIS

A micromethod of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), previously described, was used from 1976 onwards for the serodiagnosis of five parasitic diseases. In each case, we measured the optical densities obtained with different dilutions (1 : 20, 1 : 40, and so on) of sera obtained from patients under clinical and parasitological surveillance. In addition, specificity was checked each time with 25 negative sera from healthy

persons and 18–26 sera from patients with various serious parasitological conditions. Finally, a parallel study was made of all the sera by means of comparative serological tests, indirect immunofluorescence, passive haemagglutination and/or immunoelectrophoresis.

Taken as a whole, the various checks confirmed the excellent specificity of the ELISA test under the conditions and with the antigens used. This reaction has a

particularly high diagnostic significance. As regards the five parasitic conditions studied, it was in fact invariably positive in all cases of active or old toxoplasmosis, hepatic amoebiasis (the test was negative in 1 of 7 cases of purely intestinal amoebiasis) and in all proven cases of hepatic hydatidosis, trichinosis, or aspergillosis. Finally, it is possible that the precise measurement of optical

densities at one or two dilutions of the sera as studied may provide sufficiently quantitative results to replace the complete ranges of serum dilutions, with determination of a final titre. This system needs further investigation but seems particularly suitable for toxoplasmosis if the results are expressed in international units based on the WHO reference serum.

BIBLIOGRAPHIE

1. AMBROISE-THOMAS, P. Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence. Thèse Sciences, Lyon, 1969.
2. AMBROISE-THOMAS, P. & KIEN TRUONG, T. Fluorescent antibody test in amebiasis. Clinical applications. *American journal of tropical medicine and hygiene*, **21**: 907-912 (1972).
3. AMBROISE-THOMAS, P. & DESGEORGES, P. T. Diagnostic immuno-enzymologique (ELISA) des maladies parasitaires par une microméthode modifiée. 1. Modalités techniques. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **56**: 609-613 (1978).
4. BOS, H. J. ET AL. Application of ELISA — enzyme linked immunosorbent assay—in the serodiagnosis of amoebiasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **69**: 440 (1975).
5. BOUT, D. ET AL. Le diagnostic immunoenzymologique des affections parasitaires. II. Immunoenzymologie quantitative (ELISA). *Lille médical*, **20**: 561-566 (1975).
6. BULLOCK, S. L. & WALLS, K. W. Evaluation of some of the parameters of the enzyme-linked immunospecific assay. *Journal of infectious diseases*, **136** S: S279-S285 (1977).
7. ENGVALL, E. & LJUNGSTRÖM, I. Detection of human antibodies to *Trichinella spiralis* by enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. *Acta pathologica et microbiologica scandinavica, section C*, **83**: 231-237 (1975).
8. FARAG, H. ET AL. Specific immunodiagnosis of human hydatidosis by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Biomedicine*, **23**: 276-278 (1975).
9. HOMMEL, M. ET AL. Technique immuno-enzymatique (ELISA) appliquée au diagnostic sérologique des candidoses et aspergilloses humaines. Résultats préliminaires. *Nouvelle presse médicale*, **5**: 2789-2791 (1976).
10. Le titrage avec immunoadsorbant lié à une enzyme (ELISA). *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **55**: 557-568 (1977).
11. RUITENBERG, E. J. Serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infection in pigs by enzyme-linked immunosorbent assays. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, **51**: 108-109 (1974).
12. RUITENBERG, E. J. Microsystem for the application of ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) in the serodiagnosis of *Trichinella spiralis* infection. *Medikon Nederland*, **4**: 30-31 (1975).
13. VOLLER A. A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. *Journal of clinical pathology*, **29**: 150-153 (1976).
14. VOLLER, A. ET AL. Enzyme immunoassays for parasitic diseases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, **70**: 98-106 (1976).
15. VOLLER, A. ET AL. *The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. Guernsey, Flowline Publications, 1977.
16. WALLS, K. W. ET AL. Use of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its micro-adaptation for the serodiagnosis of toxoplasmosis. *Journal of clinical microbiology*, **5**: 273-277 (1977).