

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin
Coprologie parasitaire
Mycologie (antifongigramme)
Sérologie de la toxoplasmose

Muriel FROMAGE (Afssaps)
Bernard FORTIER (Hôpital de Brabois, Nancy)

Expédition : 24 novembre 2004

Clôture : 20 décembre 2004

Edition des compte-rendus individuels : 11 février 2005

Paramètres contrôlés : **Frottis sanguin** : *Plasmodium falciparum*, sang non parasité, *Plasmodium malariae*

Coprologie : *Giardia intestinalis*, *Anisakis sp.*, *Taenia saginata*

Mycologie : *Candida glabrata* (identification et antifongogramme)

Sérologie de la toxoplasmose

Nombre de laboratoires concernés* : 4170

Nombre de laboratoires participants** : 3936

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

A l'occasion de cette opération de contrôle un frottis sanguin non parasité et deux frottis de paludisme (l'un à *P.falciparum*, l'autre à *P.malariae*) ont été adressés aux laboratoires.

Sur le frottis non parasité, des *Plasmodium* ont été vus par 8,7% des participants. Ce pourcentage est très proche de la moyenne (6,5%) calculée sur les 35 frottis non parasités, envoyés ces 20 dernières années, dans le cadre du contrôle de qualité. En ce qui concerne le frottis parasité par *P. malariae*, on note 80,1% de diagnostics d'espèce corrects, ce qui est le meilleur score obtenu sur un frottis de richesse comparable (0,1% d'hématies parasitées). Quant à *P. falciparum*, le frottis ne comportait que des trophozoïtes. On constate pour ce type de frottis monomorphe que pourcentage de bons diagnostics augmente proportionnellement à la parasitémie (ici, 92% pour une parasitémie d'environ 2,5%).

La coprologie parasitaire comportait une identification de kystes de *Giardia intestinalis* qui ne pose pas de problème : ce protozoaire de diagnostic aisé a été reconnu par 94% des participants.

Quant au diagnostic d'œufs de *Taenia*, il a été fait par 9 laboratoires sur 10 (score stable par rapport à l'envoi précédent en 1998). La différence entre les dénominations «embryophore» et «œuf» n'a pas de conséquence pratique. En revanche, le diagnostic différentiel entre les deux espèces de *Taenia* (*T. saginata* et *T. solium*) est essentiel mais il faut pour cela étudier le scolex ou un anneau, ce qui n'était pas le cas ici.

Enfin, bien que le nombre de cas d'anisakiase humaine tende à diminuer en France et que la majorité des biologistes n'auront jamais l'occasion dans leur pratique quotidienne d'en faire le diagnostic, la larve d'*Anisakis* adressée aux laboratoires a été correctement identifiée dans 86% des cas.

Une levure, *Candida glabrata* résistante au fluconazole et à l'itraconazole était également proposée pour identification et antifongogramme. Parmi les 3394 laboratoires ayant étudié cette souche, près de 95% l'ont correctement identifiée et un peu plus des trois quarts ont poursuivi l'analyse par un antifongogramme. La résistance aux deux dérivés azolés a été détectée par respectivement 82% et 91% des participants.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2582 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme a reçu deux échantillons à tester parmi les six proposés. L'analyse des résultats sur l'ensemble de l'année 2004 (opérations 04PAR1 et 04PAR2) montre que la technique au latex est nettement moins performante que la technique immunoenzymatique pour la détection de faibles titres d'IgG. En revanche, quel que soit l'échantillon considéré, on note une dispersion importante des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques : la moyenne des CV tous réactifs confondus est de 37%. Ceci en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI les IgG anti toxoplasme.

Frottis sanguin

1 - Echantillon OKOMO ou NDUNBE

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis sanguin parasité coloré au MGG.

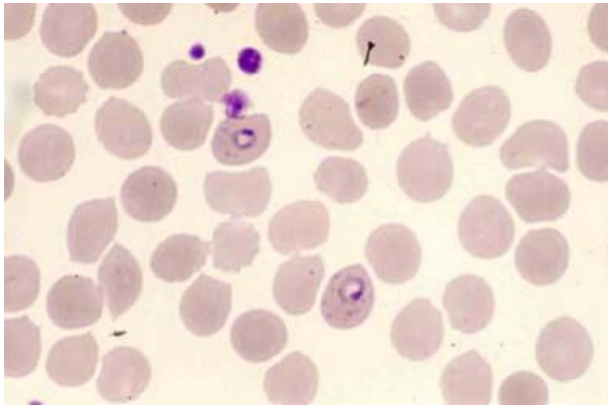
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J-J. ROUSSET (Bobigny) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*.

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 2 à 3 % d'hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un malade fébrile originaire du Cameroun où il a séjourné 15 jours en octobre dernier (soit un mois auparavant).



Deux trophozoïtes de *P. falciparum* avec des taches de Maurer.
Obj. X100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1266 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors de trois envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. falciparum* d'une richesse comparable et comportant uniquement le stade trophozoïte sont rapportés dans le tableau II.

Le pourcentage de bonnes réponses en fonction du pourcentage d'hématies parasitées est représenté figure 1.

Tableau I - Ensemble des réponses des 1266 laboratoires participants.

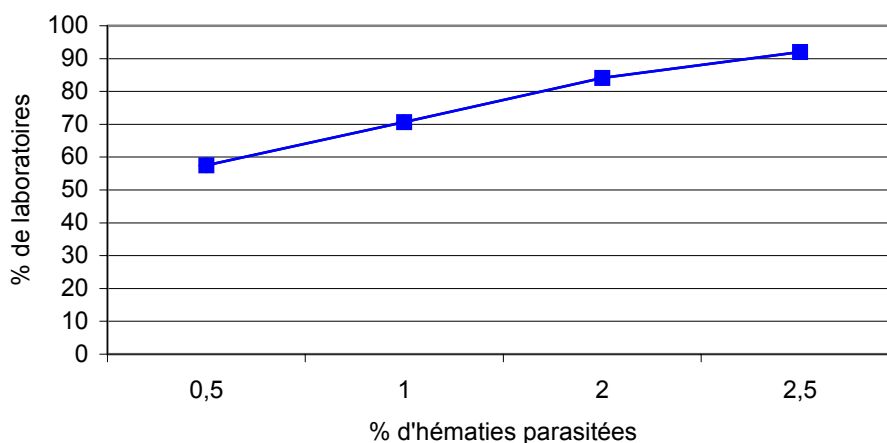
STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	84,0	92,0 *
Schizontes jeunes		12,3	
Schizontes âgés		4,1	
Gamétocytes		1,1	
divers/non précisés		0,8	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		2,5
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		2,1
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,8
Absence de parasite			0,6
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			1,7

* : soit 94,1% des 1238 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Tableau II - Bilan de quatre opérations de contrôle « trophozoïtes *Plasmodium falciparum* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de laboratoires ayant répondu :	
			« <i>P. falciparum</i> »	« absence de parasite »
2004	1266	2 - 3	92,0	0,6
2002	1326	1	70,7	0
1999	1316	0,5	57,5	0,15
1997	1281	1 - 3	84,1	1,1

Figure 1 - Pourcentage de laboratoires ayant répondu "*P.falciparum*" en fonction de la parasitémie



Commentaires

Les lames étiquetées OKOMO ou NDUNBE sont des lames riches de *Plasmodium falciparum*. En effet, dès la mise au point à l'objectif x 100, on note la présence de plusieurs hématies parasitées par des trophozoïtes âgés de *Plasmodium falciparum*. Les caractéristiques morphologiques de ces trophozoïtes sont les suivantes : un noyau sombre, rouge (chaton de la bague) et un cytoplasme (anneau) est épais, étalé, bleu. De nombreux trophozoïtes sont marginés c'est-à-dire donnent un aspect boursoufflé à la membrane de l'hématie. Les hématies contiennent des taches de Maurer pathognomoniques de *Plasmodium falciparum*. Ces taches sont rouges, de forme irrégulière, aisément dénombrables dans l'hématie. Elles ne peuvent être mises en évidence que par une coloration utilisant une eau à pH 7,2. En parcourant la lame on ne voit que des trophozoïtes, confirmant ainsi le diagnostic de *Plasmodium falciparum*. Il faut rappeler que l'espèce *falciparum* entraîne les accès palustres les plus graves et qu'il s'agit d'une urgence biologique. Sept laboratoires ont répondu « absence de parasite » sur ce frottis parasité par *P. falciparum*.

Dans le cadre du contrôle national de qualité, on constate pour ce type d'échantillon (frottis monomorphe), que le pourcentage de bons diagnostics augmente proportionnellement à la parasitémie (ici, 92% pour une parasitémie d'environ 2,5%) (figure 1).

M. FONTRouGE, Centre Hospitalier, Laboratoire - Gonesse.

2 - Echantillon LEKE ou ENYONG

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis sanguin coloré au MGG.

Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J-J. ROUSSET (Bobigny) est le suivant : Absence de parasite

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un malade fébrile originaire du Cameroun où il a séjourné 15 jours en octobre dernier (soit un mois auparavant).

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1249 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau III.

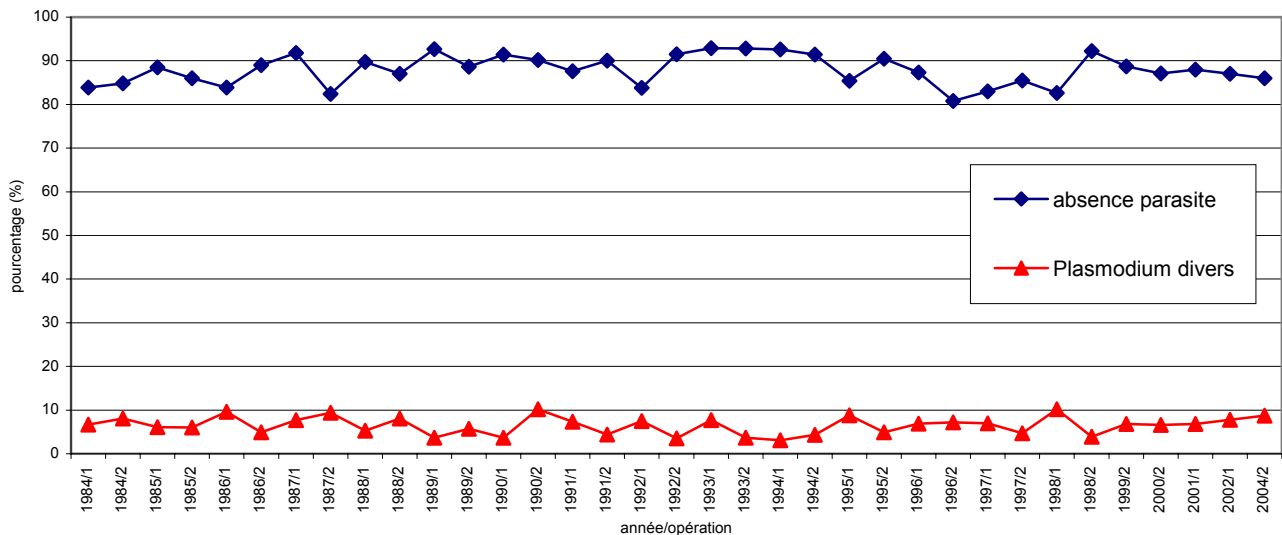
La figure 2 montre l'évolution des réponses obtenues, ces 20 dernières années, lors de l'envoi d'un frottis non parasité.

Tableau III – Ensemble des réponses des 1249 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèce
Absence de parasite		86,0 *
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>	3,2
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>	2,4
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>	1,8
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>	1,3
Parasites divers		1,3
PAS DE REPONSE		2,3
EXAMEN TRANSMIS		1,7

* : soit 89,6% des 1199 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Figure 2 - Evolution des principales réponses obtenues pour un frottis sanguin non parasité (1984 - 2004)



Commentaires

L'analyse sur 20 ans des principales réponses obtenues lors des 35 opérations de contrôle qui comportaient un frottis sanguin non parasité (figure 2) ne montre pas de changement notable au fil du temps en ce qui concerne le pourcentage de bonnes réponses « absence de parasite » qui varie de 80,8 à 92,9% avec une moyenne de 87,9% tandis qu'un faux diagnostic de Plasmodium est retrouvé dans 3,1 à 10,2% des cas selon les années (moyenne : 6,5%).

3 - Echantillon ADIOGO ou DJOKO

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis sanguin parasité coloré au MGG.

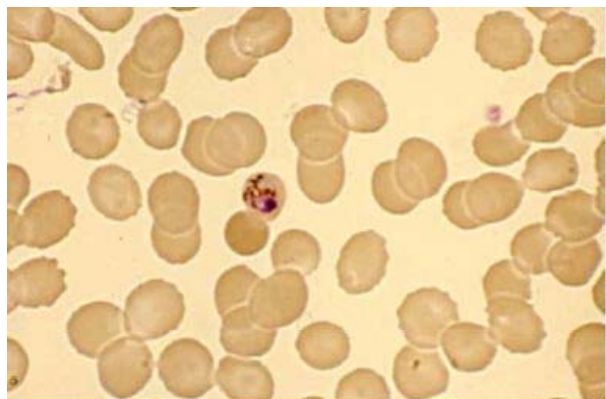
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J-J. ROUSSET (Bobigny) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium malariae*.

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 0,1% en moyenne d'hématies parasitées.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un Camerounais afébrile, émigré en France depuis 5 ans sans être retourné dans son pays d'origine .



Trophozoïte âgé de *P. malariae*.
Petite hématie et pigment abondant.
Obj. X100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1246 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau IV.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des quatre envois précédents d'un frottis parasité par *P. malariae* sont rapportés dans le tableau V.

Tableau IV – Ensemble des réponses des 1246 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. malariae</i>	66,4	80,1 *
Schizontes jeunes		25,7	
Schizontes âgés		24,1	
Gamétocytes		11,8	
divers/non précisés		0,8	
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		5,6
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		3,3
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		3,0
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,4
Parasites divers			0,2
ABSENCE DE PARASITE			5,5
PAS DE REPONSE			1,7
EXAMEN TRANSMIS			0,7

* : soit 82,1% des 1216 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Tableau V - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Plasmodium malariae* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de bonnes réponses « <i>P. malariae</i> »	Erreur la plus fréquente (%)
2004	1246	0,1	80,1	<i>P. falciparum</i> (5,6)
2000	1305	0,1	55,4	<i>P. vivax</i> (27,2)
1994	1189	0,1	76,4	<i>P. vivax</i> (12,0)
1992	1239	0,1	65,6	<i>P. vivax</i> (13,1)
1984	952	0,2 - 1	81,9	<i>P. vivax</i> (8,6)

Commentaires

L'identification de l'espèce *Plasmodium malariae*, agent de la fièvre quarte, repose principalement sur :

- les caractères des hématies infectées qui sont assez souvent un peu plus petites et un peu plus colorées que les hématies normales et qui sont surtout dépourvues de granulations de Schüffner (diagnostic différentiel avec *P. vivax* et *P. ovale*).
- l'apparition précoce d'un pigment brun-noir abondant, d'aspect charbonneux.
- l'aspect fréquemment un peu « rabougri » des trophozoïtes et des jeunes schizontes qui présentent souvent un cytoplasme filiforme, en maille de filet.
- la présence de trophozoïtes et parfois de jeunes schizontes « en bande équatoriale », c'est-à-dire ayant une tendance marquée à s'étirer pour occuper tout le diamètre de l'hématie sous la forme d'un élément rubané de largeur variable.
- la présence de schizontes mûrs ou rosaces à 8 mérozoïtes (6 à 12) bien individualisés et très régulièrement disposés autour d'une masse de pigment (corps en marguerite).
- la présence de jeunes gamétocytes arrondis parfois difficiles à distinguer d'un vieux trophozoïte et qui, arrivés à maturité, ne dépassent guère la taille de l'hématie.

L'échantillon ADIOGO ou DJOKO ne contenait que des trophozoïtes. On note 80,1% de diagnostics d'espèce corrects, ce qui est le meilleur score obtenu sur un frottis de richesse comparable (0,1% d'hématies parasitées) (tableau V).

P. malariae qui se contente d'un isotherme d'été de 15°C se rencontre par petits foyers dans le monde entier. La parasitémie est habituellement faible. Les infections mixtes à *P. malariae* / *P. falciparum* ne sont pas exceptionnelles.

J.-F. PAYS, Faculté de Médecine de Necker, Laboratoire de Parasitologie - Paris.

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon ORAISSA ou NZILA

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

Le diagnostic des experts Dr J.-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J.-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J.-G. GOBERT (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Giardia intestinalis*

Stade : kyste

Richesse de la selle : 1 à 2 champs au X40 pour trouver un kyste

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites intestinaux chez un enfant pakistanais de 7 ans présentant une diarrhée.



Kyste de *Giardia intestinalis*.
Coloration au lugol.
Obj. X100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1266 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VI.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des quatre envois précédents d'une selle contenant des kystes de *Giardia intestinalis* sont rapportés dans le tableau VII .

Tableau VI - Ensemble des réponses des 1266 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Kyste	<i>Giardia intestinalis</i>	91,3	94,3 *
Forme végétative		5,7	
Oeuf		1,8	
Stades divers/non précisés		0,9	
Stades divers/non précisés	Protozoaires divers		2,8
Stades divers/non précisés	Helminthes divers		2,6
ABSENCE DE PARASITE			0,5
PAS DE REPONSE			0,9
EXAMEN TRANSMIS			2,3

* : soit 97,3% des 1226 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Tableau VII - Bilan des cinq opérations de contrôle « Kystes de *Giardia intestinalis* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :	
			« <i>Giardia intestinalis</i> »	«absence de parasite »
2004	1266	1 - 2	94,3	0,5
2002	1326	1 - 3	92,1	2,9
1999	1298	2 - 5	93,8	1,5
1998	1297	2 - 5	93,4	2,5
1995	1268	1	97,0	0,7

* : nombre de champs Obj. X40 pour trouver un kyste

Commentaires

Lamblia ou *Giardia intestinalis* est un protozoaire flagellé, cosmopolite, parasite du tube digestif de l'homme (parfois de certains primates). Bien qu'en baisse dans nos régions, il reste fréquent dans les zones tropicales, surtout chez les enfants. Peu pathogène, il peut cependant se compliquer d'un syndrome de malabsorption. Le traitement spécifique est efficace. Dans les selles, on le trouve sous forme de kystes, avec des formes végétatives (réactivation) en cas de transit accéléré.

Le kyste de *Giardia* est très facile à reconnaître à l'état frais sans coloration préalable, cependant en cas de nécessité, le MIF permet une meilleure visualisation de sa morphologie.

Dans la selle ORAISSA ou NZILA, les kystes sont relativement nombreux et typiques. Ils sont ovoïdes, réguliers et de taille homogène (11-12 µm), la coque est lisse et légèrement réfringente. Le cytoplasme laisse un petit espace vide devant la coque, ce qui donne l'impression d'une double membrane. A l'intérieur, on observe une cloison de forme de S dans le sens de la longueur (flagelles), 2 à 4 noyaux selon la maturité du kyste, et des grosses virgules en travers (les corps parabasaux).

La selle contient aussi de rares formes végétatives en forme de cerf-volant, déprimées au centre, plus grandes que le kyste (15-20 µm), à symétrie bilatérale, avec un axostyle, 2 gros noyaux et 2 paires de flagelles dirigés vers la partie postérieure du parasite.

L'identification de kystes de *Giardia intestinalis* n'a pas posé de problème : ce protozoaire de diagnostic aisé a été reconnu par 94% des participants.

R. DAHAN-HIMY, Institut de parasitologie, Faculté de Médecine - Strasbourg

2 – Echantillon LAMAS et ESCO

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un élément vermiforme formolé. Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Pr J-J. ROUSSET (Bobigny) est le suivant :

Nom du parasite : *Anisakis sp.*

Stade : larve L3

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : identification d'un élément vermiforme prélevé lors d'une gastroscopie faite à la suite d'une vive douleur abdominale survenue après un repas où a été servi du colin très rose à l'arête.



Anisakis simplex.
Larve 3^{ème} stade.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1249 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VIII.

Tableau VIII – Ensemble des réponses des 1249 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Larve	<i>Anisakis sp.</i>	50,1	86,2 *
Adulte		25,2	
Stades divers/non précisés		11,0	
Stades divers/non précisés	<i>Diphyllobothrium latum</i>		2,4
Stades divers/non précisés	ankylostomidés		2,4
Stades divers/non précisés	<i>Enterobius vermicularis</i>		1,1
Stades divers/non précisés	Autres nématodes		1,2
Stades divers/non précisés	Autres helminthes		1,2
Adulte ou larve	Non précisé		0,4
ABSENCE DE PARASITE			1,4
PAS DE REPONSE			1,1
EXAMEN TRANSMIS			2,6

* : soit 89,5% des 1203 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Commentaires

La larve d'*Anisakis simplex* qui a été envoyée aux biologistes provenait de hareng. Elle était au 3^{ème} stade L3, infestante pour les mammifères parasités (dauphin, marsouin, baleine ...). Elle mesure environ de 1,5 à 4,5 cm de long et elle est présente chez plus de 80% des harengs, des grondins, des merlus, des sébastes, les deux tiers des chinchards, des merlans et le tiers des maquereaux pêchés en France. Ingérée vivante en particulier en consommant du poisson cru, elle provoque de violentes douleurs gastriques ou intestinales accompagnant d'importantes lésions ce qui conduit à une intervention chirurgicale, ou à une gastroscopie et à la mise en évidence de cette larve alors apportée au biologiste pour identification. Après que des données réglementaires aient été définies pour la consommation de poisson cru et les consommateurs informés, le nombre de cas d'anisakiase humaine tend à diminuer en France.

En revanche, de nombreuses publications, surtout espagnoles, ont montré qu'*Anisakis simplex* était un important élément allergisant, en raison d'allergènes thermostables, qui interviennent localement au niveau du tube digestif mais aussi de la peau en étant fréquemment à l'origine d'urticaire, ou de l'ensemble de l'organisme humain en provoquant parfois des chocs anaphylactiques.

C'est la deuxième fois qu'une telle larve est proposée dans le cadre du contrôle national de qualité. Lors de l'envoi précédent en 1990, seuls 59% des laboratoires l'avaient identifiée, ils sont 86% ici. On note une nette décroissance des diagnostics erronés comme « ankylostomidés » (11,7% en 1990 et 4% en 2004) ou de façon moins marquée « *Diphyllobothrium latum* » (4,1% en 1990 et 2,4% en 2004) ou « *Enterobius vermicularis* » (3,3% en 1990 et 1,1% en 2004).

J.C. PETITHORY, Centre Hospitalier, Laboratoire – Gonesse.

3 - Echantillons AXAL ou DUBOS

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J.G. GOBERT (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Taenia saginata*

Stade : œuf et embryophore

Richesse de la selle : 5 à 10 œufs ou embryophores par lamelle 22X22

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen parasitologique d'une selle chez un français ayant une éosinophilie à 1500/ μ l.



Œuf de *Taenia saginata* rarement trouvé dans les selles et contenant l'embryophore habituellement vu dans les selles.
Obj. X40

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1246 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau IX.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des quatre envois précédents d'une selle contenant des œufs ou embryophores de *T. saginata* sont rapportés dans le tableau X.

Tableau IX – Ensemble des réponses des 1246 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Oeuf	<i>T. saginata</i>	34,7	52,3 *
Embryophore		17,9	
Stades divers/non précisés		1,2	
Oeuf	<i>T. solium</i>	2,7	4,0
Embryophore		1,1	
Stades divers/non précisés		0,2	
Oeuf	<i>Taenia sp.</i>	21,9	33,8
Embryophore		12,4	
Stades divers/non précisés		0,6	
Stades divers/non précisés	<i>Ascaris lumbricoides</i>		3,0
Stades divers/non précisés	Helminthes divers		0,9
Stades divers/non précisés	Protozoaires divers		0,7
ABSENCE DE PARASITE			3,0
PAS DE REPONSE			1,0
EXAMEN TRANSMIS			1,8

* : soit 53,8 % des 1211 laboratoires ayant rendu un diagnostic

Tableau X - Bilan des cinq opérations de contrôle « Œufs ou embryophores de *T.saginata* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :	
			« <i>T.saginata</i> » ou « <i>T.solium</i> » ou « <i>Taenia</i> »	« <i>A.lumbricoides</i> »
2004	1246	5 - 10	90,1	3,0
1998	1256	1 - 6	89,2	5,2
1990	1089	2 - 10	76,7	5,9
1986	614	5 - 30	79,6	11,4
1983	1074	5 - 35	78,9	10,6

* : nombre d'œufs ou d'embryophores par lamelle 22X22

Commentaires

La selle AXAL ou DUBOS contenait des œufs et des embryophores de *Taenia saginata*, 5 à 10 par lamelle 22x22.

En l'absence de toute cause allergique, c'est la première étiologie à évoquer devant une hyperéosinophilie sanguine chez un patient adulte n'ayant jamais quitté la métropole.

En pratique courante, il est très difficile de différencier sur la simple observation microscopique les embryophores de *T. saginata* (plus sphériques) de ceux de *T. solium* (plus ovoïdes). Tous deux contiennent 3 paires de crochets et mesurent de 30 à 50 µm. Il est rare de trouver la tête, scolex inerme pour *T. saginata* et deux rangés de crochets pour *T. solium*.

L'étude des anneaux mûrs du *Taenia* incriminé avec la numération des branches utérines (15 à 30 pour *T. saginata* et 7 à 10 pour *T. solium*) donnera un diagnostic de certitude.

Lors de cette opération de contrôle, le diagnostic de « *Taenia* » a été réalisé par 9 laboratoires sur 10 (score stable par rapport à l'envoi précédent en 1998). On note, par ailleurs, une diminution progressive des diagnostics erronés d'ascaridiose.

E. VANDEMEULEBROUCKE et P. JOUSSERAND, Centre Hospitalier, Laboratoire de Parasitologie - Gonesse.

Mycologie

Echantillons OLIVER ou DIARD ou LEDRU ou EGLOF ou AMISSE ou DEBRU

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Candida glabrata* sur milieu de Sabouraud. Cette souche a été fournie par le Dr F. DROMER, responsable du Centre national de Référence de la Mycologie et des Antifongiques (Institut Pasteur, Paris). Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : levure isolée d'une hémoculture après 3 semaines de traitement prophylactique par le fluconazole à 400 mg/j chez un patient allogreffé de moelle osseuse porteur d'un cathéter veineux central. Les résultats de l'antifongogramme fournis avec la souche sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Antifongiques	Résultats du laboratoire expert (CMI en mg/l)					Interprétation de la CMI
	Diffusion gélose *	Fungitest Biorad	ATB Fungus 2 bioMérieux	E- test * AB Biodisk	Méthode de référence (EUCAST) **	
Amphotéricine B (AMB)	100µg -> S	# 2	0,5	0,064	0,25	S
5 - Fluorocytosine (5FC)	1µg -> S	# 2	# 0,5	0,023	# 0,125	S
Fluconazole (FCZ)	25µg -> R	> 64	128	> 256	> 64	R
Itraconazole (ITZ)	NT	> 4	4	> 32	> 8	R

* : sur milieu Casitone sauf pour la 5FC (milieu YMA), S = sensible, R = résistant, NT = non testé

** : en milieu RPMI 1640-MOPS glucose 2% sauf pour l'AMB (milieu AM3)

Identification : résultats des participants

L'ensemble des identifications transmises par les 3761 laboratoires participants à cette opération de contrôle ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XI.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des sept envois précédents d'une souche de *Candida glabrata* sont rapportés dans le tableau XII.

Tableau XI - Bilan des 3761 réponses.

Diagnostic	%
<i>Candida glabrata</i>	85,5
<i>Candida krusei</i>	0,9
<i>Candida parapsilosis</i>	0,5
<i>Candida albicans</i>	0,5
<i>Candida tropicalis</i>	0,4
Candida divers ou <i>Candida sp.</i>	1,0
<i>Cryptococcus sp.</i> ou <i>Cryptococcus neoformans</i>	0,5
Autres levures	1,0
Pas de réponse	3,3
Examen transmis	6,4

Tableau XII - Bilan des huit opérations de contrôle « *Candida (Torulopsis) glabrata* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de bonnes réponses « <i>Candida (Torulopsis) glabrata</i> »	deuxième réponse (%)
2004	3761	85,5	<i>C. krusei</i> (0,9)
2003	1270	88,1	<i>C. krusei</i> (0,9)
1997	1423	85,1	<i>C. krusei</i> (5,6)
1993	1034	82,7	<i>C. krusei</i> (2,9)
1988	1166	72,4	<i>Torulopsis sp.</i> (1,1)
1984	1137	74,7	<i>C. krusei</i> (4,7)
1980	694	73,6	<i>C. tropicalis</i> (6,4)
1980	747	58,4	<i>C. tropicalis</i> (13,7)

Identification : commentaires

Compte tenu des comptes rendus précédents auxquels le lecteur peut se rapporter, nous rappellerons succinctement les principaux caractères permettant d'identifier une souche de *Candida (Torulopsis) glabrata* :

- pousse facilement en 24 heures à 30-37°C sur Sabouraud chloramphénicol sous forme de colonies blanches, lisses et brillantes.
- sa croissance est inhibée par l'actidione.
- à l'examen microscopique, on observe des petites levures ovoïdes, non capsulées, à bourgeonnement multipolaire ne produisant pas de pseudomycélium.
- cette levure ne fermente et n'assimile que le glucose et le tréhalose. Elle est uréase (-) et réduit les sels de tétrazolium en 48 heures.

Candida glabrata est un saprophyte de l'homme. On le retrouve dans divers types d'infections (urinaires, broncho-pulmonaires, génitales, septicémies).

Antifongigramme : résultats des participants

Il était demandé de tester la sensibilité de la souche vis-à-vis des quatre antifongiques suivants : amphotéricine B, 5-fluorocytosine, fluconazole et itraconazole.

Puis, dans un deuxième temps, les laboratoires qui réalisent cette analyse en routine pouvaient préciser la concentration minimale inhibitrice (CMI) des quatre antifongiques précédents en indiquant pour chacun : d'une part le réactif utilisé, d'autre part l'interprétation de la CMI trouvée en termes de catégorisation clinique (sensible, intermédiaire ou résistante) de la souche.

Les réactifs utilisés pour effectuer l'antifongigramme sont rapportés dans le tableau XIII.

Les résultats globaux de l'antifongigramme réalisé par 2594 laboratoires sont présentés dans le tableau XIV, lui-même complété par le tableau XV qui reprend en détail les réponses obtenues pour chaque antifongique en fonction du réactif employé.

En ce qui concerne les CMI, leurs distributions en fonction du réactif utilisé sont représentées figure 3.

Les concentrations critiques inférieures et supérieures des quatre antifongiques ainsi que les règles d'interprétation de la CMI (NCCLS et EUCAST) sont rappelées dans le tableau XVI.

La souche était résistante à deux des quatre antifongiques testés (fluconazole et itraconazole). C'est pourquoi, nous nous sommes particulièrement intéressés, pour ces derniers, à l'interprétation par les laboratoires des CMI trouvées avec l'ATB Fungus 2, réactif le plus utilisé pour la détermination des CMI.

Le pourcentage de réponses « sensible », « intermédiaire » et « résistante » en fonction de la CMI trouvée est représenté figures 4 et 5 respectivement pour le fluconazole et l'itraconazole tandis que les résultats par catégorie (CMI et interprétation) sont rassemblés dans le tableau XVII.

Tableau XIII - Réactifs utilisés pour l'antifongigramme

Réactifs	Total (%)
E test AB BIODISK	42 (1,6)
ATB Fungus 2 BIOMERIEUX	1605 (61,9)
NeoSensitabs ROSCO	17 (0,6)
mycodisk SOBIODA	95 (3,7)
disques BIORAD	178 (6,9)
Fungitest BIORAD	228 (8,8)
Candifast INT. MICROBIO.	397 (15,3)
EUCAST	2 (0,1)
non précisé	30 (1,1)
Total	2594 (100)

Tableau XIV - Réponses des 2594 laboratoires participants

	Réponse attendue	Réponses des laboratoires participants			
		Effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Amphotéricine B	S	2575	97,1	0,7	2,2
5 - Fluorocytosine	S	2350	96,6	0,5	2,9
Fluconazole	R	2253	8,2	10	81,8
Itraconazole	R	1831	6,2	2,9	90,9

Tableau XV : Détail des réponses pour chaque antifongique en fonction du réactif utilisé**Amphotéricine B**

Réactifs	S	S (%)	I	I (%)	R	R (%)	Total
non précisé	29	100					29
E test AB BIODISK	32	100					32
ATB Fungus 2 BIOMERIEUX	1578	98,6	4	0,3	18	1,1	1600
NeoSensitabs ROSCO	16	100					16
mycodisk SOBIODA	88	92,6	3	3,2	4	4,2	95
disques BIORAD	168	95,5	5	2,8	3	1,7	176
Fungitest BIORAD	217	95,2	4	1,7	7	3,1	228
Candifast INT. MICROBIO.	370	93,2	2	0,5	25	6,3	397
EUCAST	2	100					2
Total	2500	97,1	18	0,7	57	2,2	2575

5 - Fluorocytosine

Réactifs	S	S (%)	I	I (%)	R	R (%)	Total
non précisé	22	88,0	1	4,0	1	8,0	24
E test AB BIODISK	11	73,3			4	26,7	15
ATB Fungus 2 BIOMERIEUX	1581	98,9	8	0,5	10	0,6	1599
NeoSensitabs ROSCO	12	85,7			2	14,3	14
disques BIORAD	61	72,6			23	27,4	84
Fungitest BIORAD	220	96,9	2	0,9	5	2,2	227
Candifast INT. MICROBIO.	361	93,8	1	0,3	23	6,0	385
EUCAST	2	100					2
Total	2270	96,6	12	0,5	68	2,9	2350

Fluconazole

Réactifs	S	S (%)	I	I (%)	R	R (%)	Total
non précisé	7	28,0	1	4,0	17	68,0	25
E test AB BIODISK	1	2,5	1	2,5	38	95,0	40
ATB Fungus 2 BIOMERIEUX	125	8,1	205	13,2	1220	78,7	1550
NeoSensitabs ROSCO	1	6,3			15	93,8	16
Fungitest BIORAD	6	2,7	8	3,5	212	93,8	226
Candifast INT. MICROBIO.	44	11,2	11	2,8	339	86,0	394
EUCAST					2	100	2
Total	184	8,2	226	10,0	1843	81,8	2253

Itraconazole

Réactifs	S	S (%)	I	I (%)	R	R (%)	Total
non précisé	5	35,7			9	64,3	14
E test AB BIODISK					31	100	31
ATB Fungus 2 BIOMERIEUX	99	6,4	49	3,2	1401	90,4	1549
NeoSensitabs ROSCO	3	33,3			6	66,7	9
Fungitest BIORAD	6	2,7	5	2,2	215	95,1	226
EUCAST					2	100	2
Total	113	6,2	54	2,9	1664	90,9	1831

Figure 3 - Distribution des CMI en fonction du réactif utilisé

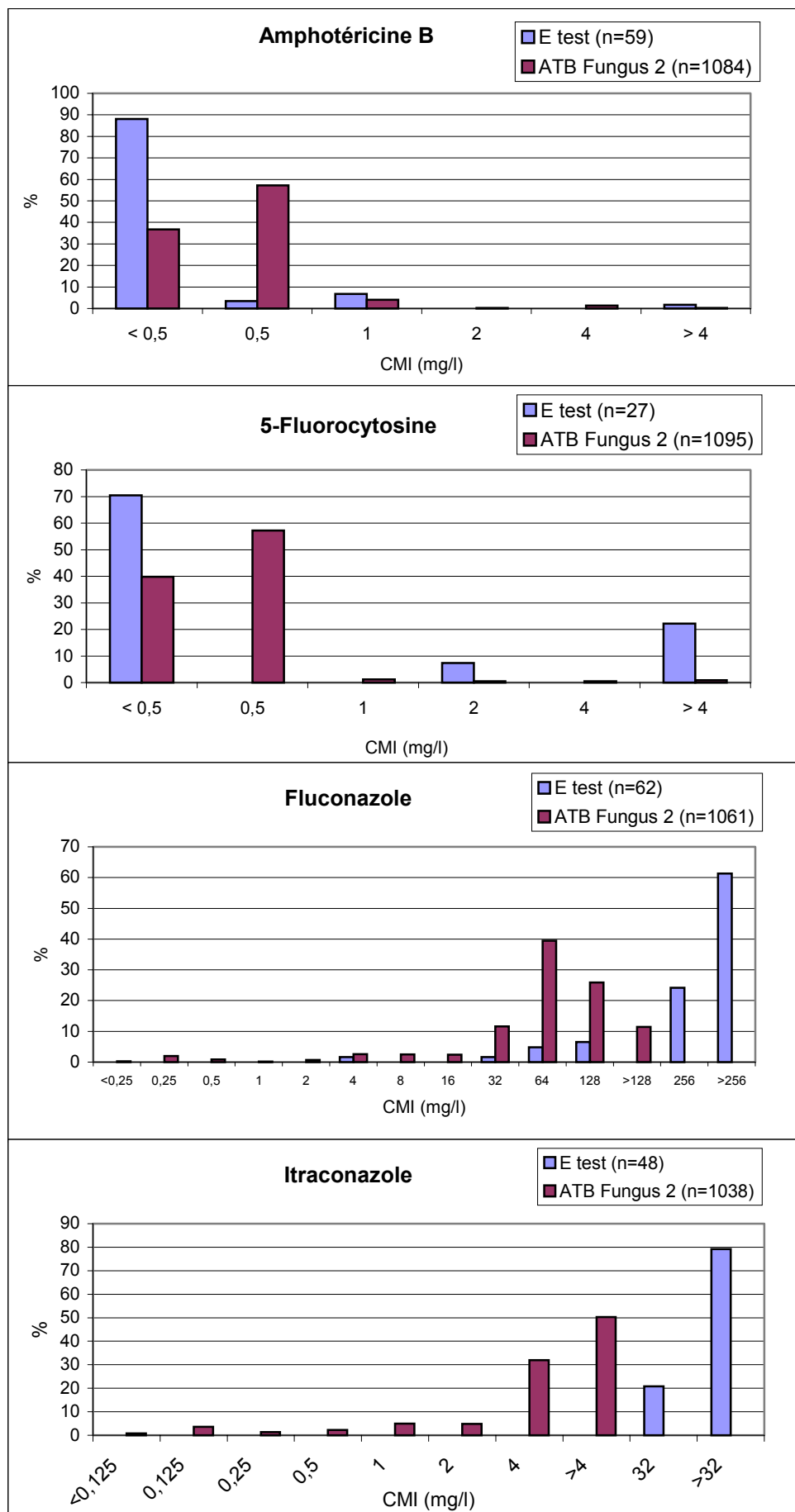


Tableau XVI - Concentrations critiques (mg/l) et règles d'interprétation

antifongiques	Catégories cliniques		
	S	I / SDD *	R
Amphotéricine B	ND	ND	\$ 2
5 - Fluorocytosine	# 4	8 - 16	\$ 32
Fluconazole	# 8	16 - 32	\$ 64
Itraconazole	# 0,125	0,25 - 0,5	\$ 1

* : SDD (sensibilité dose dépendante) pour le fluconazole et l'itraconazole.

Figure 4 - Fluconazole : catégorisation clinique en fonction de la CMI trouvée par les utilisateurs de l'ATB Fungus 2

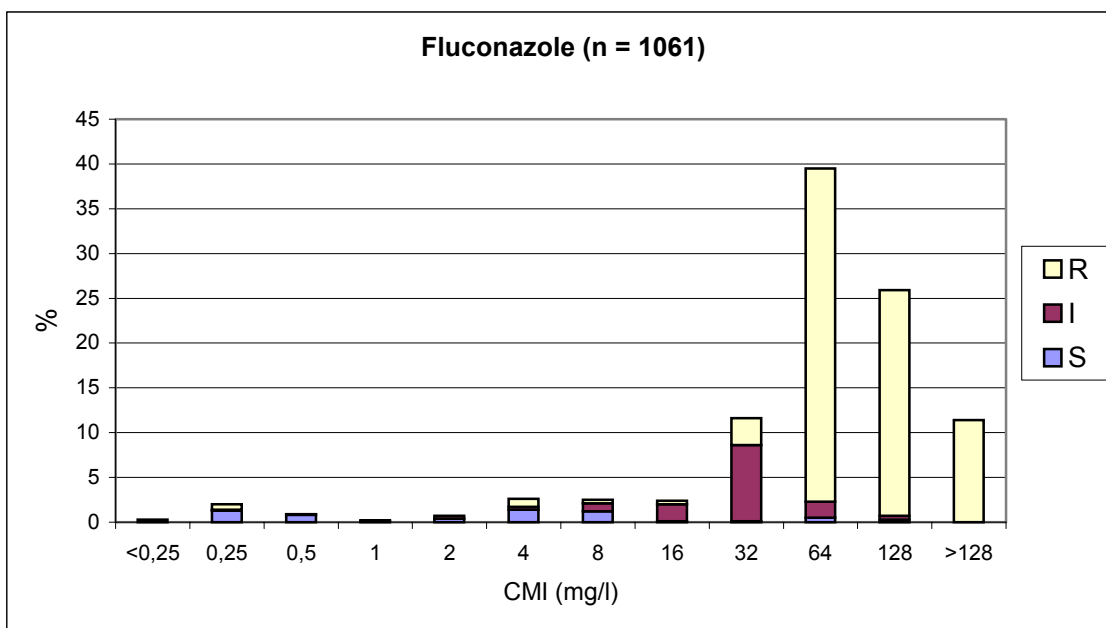


Figure 5 - Itraconazole : catégorisation clinique en fonction de la CMI trouvée par les utilisateurs de l'ATB Fungus 2

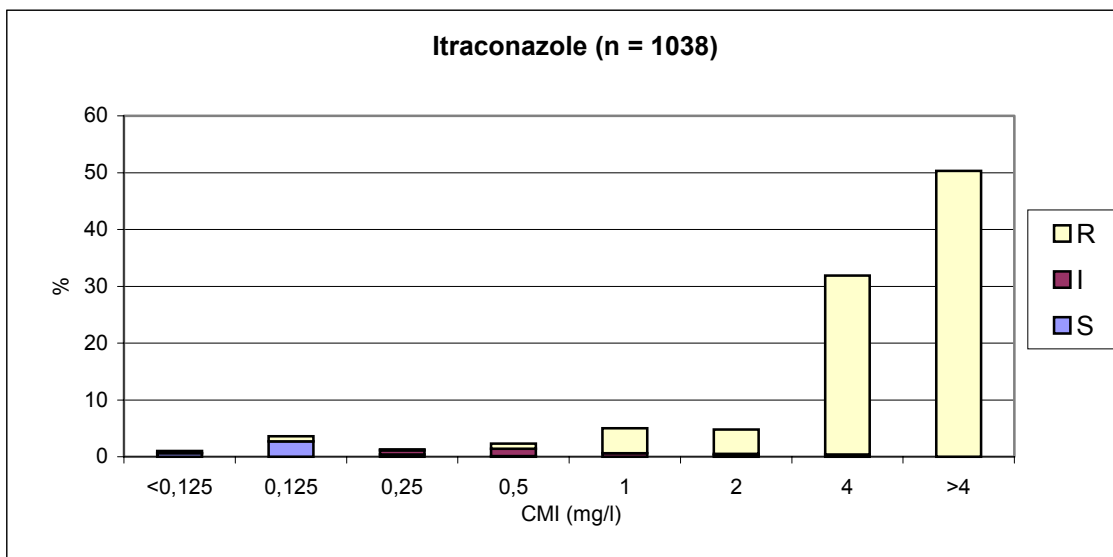


Tableau XVII - Répartition des CMI du fluconazole et de l'itraconazole et interprétations rendues par les utilisateurs de l'ATB Fungus 2.

FLUCONAZOLE (n : 1061)			ITRACONAZOLE (n : 1038)		
CMI (mg/l)	# 8	9,2	# 0,125	4,4	
	16 - 32	14,0	0,25 - 0,5	3,6	
	\$ 64	76,8	\$ 1	92,0	
Catégorisation clinique	S	6,5	S	3,9	
	I	14,1	I	3,4	
	R	79,4	R	92,7	

Antifongogramme : commentaires

Un peu plus des trois quarts (76,4%) des laboratoires ayant réalisé une identification de la levure ont poursuivi l'analyse par un antifongogramme (au moins un antifongique testé).

D'une façon générale, l'ATB Fungus 2 BioMérieux est le réactif le plus utilisé (62% des laboratoires) (tableau XIII). Il est suivi par les galeries Candifast (15%) et Fungitest (9%) commercialisées respectivement par International Microbio et Biorad. En ce qui concerne la méthode de diffusion en milieu gélosé (11% d'utilisateurs), trois distributeurs de disques sont cités : Biorad, Sobioda et Rosco par ordre de fréquence décroissante. Avec seulement 1,6% d'utilisateurs, la technique du E-test arrive loin derrière ; ce qui n'est pas surprenant puisqu'elle n'est, en général, pas mise en œuvre en première intention mais uniquement pour déterminer les CMI. Enfin, seuls deux laboratoires hospitaliers ont indiqué suivre la procédure de microdilution en milieu liquide préconisée par l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Ces pourcentages doivent être relativisés en fonction du type de laboratoires concernés : le Fungitest est plus utilisé à l'hôpital qu'en ville. C'est l'inverse pour le Candifast. Quant au E-test, il est presque exclusivement retrouvé à l'hôpital.

En ce qui concerne les résultats globaux de l'antifongogramme (tableau XIV), la sensibilité de la souche à l'amphotéricine B et à la 5-fluorocytosine a été relevée par respectivement 97,1 et 96,6% des laboratoires participants tandis que la résistance aux deux azolés a bien été détectée dans 81,8% des cas pour le fluconazole (8,2% de discordances très majeures : réponse « S » à la place de « R ») et 90,9% des cas pour l'itraconazole (6,2% de discordances très majeures).

L'analyse des réponses obtenues en fonction du réactif utilisé (tableau XV) montre que :

- quel que soit le réactif considéré, le pourcentage de réponses « S » est correct et varie de 92,6 à 100% pour l'amphotéricine B.
- la proportion de réponses correctes « S » est un peu plus faible pour la 5-fluorocytosine et varie de 72,6 à 100%. Ce sont les disques BIORAD qui donnent les moins bons résultats (27,4% de réponses « R »)
- avec 11,2% de discordances très majeures, le réactif Candifast est mis en défaut pour la détection de la résistance au fluconazole qui était le point important à côté duquel il ne fallait pas passer dans cet antifongogramme.
- enfin un tiers des utilisateurs des tablettes ROSCO n'ont pas détecté la résistance de la souche à l'itraconazole. Toutefois, dans le cas présent, cela ne représente que 3 laboratoires.

Il était également demandé aux laboratoires qui disposaient du réactif adéquat (galerie ATB fungus 2 ou bandelettes E-test ou méthode EUCAST) de préciser les CMI des quatre antifongiques vis-à-vis de la souche testée et d'en déduire la catégorie clinique (S, I ou R) de la souche pour chacun d'entre eux.

Parmi les participants ayant rendu une CMI pour au moins un antifongique, 86,9% sont des laboratoires hospitaliers et 13,1% sont des laboratoires privés.

L'analyse des résultats obtenus montre que :

- pour l'amphotéricine B, la majorité des participants ont rendu une CMI # 0,5 mg/l (figure 3) en accord avec les résultats obtenus par le laboratoire expert. Seuls 23 laboratoires (22 ATB Fungus 2 et 1 E-test) ont rendu une CMI supérieure ou égale à la concentration critique (2 mg/l). Toutefois, cela n'a pas vraiment eu de conséquence au niveau de la catégorisation de la souche, puisque 14 d'entre eux l'ont catégorisé « S ». Au total, 99,1% des laboratoires tous réactifs confondus ont catégorisé la souche « S » comme attendu.
- pour la 5-Fluorocytosine, la majorité des participants ont trouvé une CMI # 0,5 mg/l (figure 3) en accord avec les résultats obtenus par le laboratoire expert. Sur les 27 utilisateurs du E-test, six (soit 22,2%) ont rendu, de façon inexplicable, une CMI \$ 32 mg/l (confusion entre les codes « 5FC » et « FCZ » ?) ; ce qui

les a conduit à catégoriser la souche « R » à tort. Globalement, 97,2% des laboratoires tous réactifs confondus ont catégorisé la souche « S » comme attendu.

- pour le fluconazole, les résultats sont plus contrastés : 92% des utilisateurs du E-test et 63,2% des utilisateurs de l'ATB Fungus 2 ont rendu une CMI conforme à celle déterminée par le laboratoire expert selon la méthode de référence EUCAST (CMI > 64 mg/l). Cependant, sachant qu'une levure du genre *Candida* est catégorisée « R » au fluconazole si la CMI est supérieure ou égale à 64 mg/l, le pourcentage de CMI « acceptables » passe à 96,8% pour le E-test et 76,8 % pour l'ATB Fungus 2 si l'on intègre les laboratoires ayant rendu une CMI égale à 64 mg/l (figure 3) (tableau XVII).

L'interprétation de la CMI n'a pas posé de problème aux utilisateurs du E-test (100% d'interprétation « R » pour une CMI \leq 64 mg/l). En revanche, les règles d'interprétation (tableau XVI) sont un peu moins bien suivies par les utilisateurs de l'ATB Fungus 2 (figure 4).

- pour l'itraconazole, 100% des utilisateurs du E-test ont rendu une CMI \leq 32 mg/l et 82,2% des utilisateurs de l'ATB Fungus 2 ont rendu une CMI \leq 4 mg/l (32 mg/l et 4 mg/l étant les dernières CMI testées respectivement sur la bandelette E-test et sur la galerie ATB Fungus 2) (figure 3).

Là encore, sachant qu'une levure du genre *Candida* est catégorisée « R » à l'itraconazole si la CMI est supérieure ou égale à 1 mg/l, la souche testée est résistante.

Il faut noter que 8% des 1038 utilisateurs d'ATB Fungus 2 ont trouvé une CMI < 1 mg/l (tableau XVII). Cette sous-estimation de la CMI pouvant conduire à une catégorisation erronée « I » (discordance mineure) ou « S » (discordance très majeure) (figure 5).

Cette première opération de contrôle portant sur l'antifongogramme d'une levure du genre *Candida* a permis de faire un état des lieux des réactifs utilisés en routine par les laboratoires de ville et hospitaliers pour effectuer cette analyse. De plus, la détermination précise des CMI de quatre antifongiques (amphotéricine B, 5-fluorocytosine, fluconazole, itraconazole) vis-à-vis de la souche testée a permis de comparer les résultats obtenus avec les deux réactifs les plus utilisés, à savoir le E test d'AB BIODISK et l'ATB Fungus 2 de BIOMERIEUX. Enfin, les règles d'interprétation des CMI semblent bien suivies par les biologistes et la résistance aux deux dérivés azolés a été correctement détectée par respectivement 82% et 91% des participants.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2582 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0413 ou 0414, 0415-0416, 0417-0418, 0419-0420, 0421-0422, 0423-0424 ont été proposés.

Aucun échantillon ne contenait d'IgM anti-toxoplasme. La concentration en IgG spécifiques était variable d'un échantillon à l'autre et nulle pour les échantillons 0413-0414 et 0417-0418.

Méthode statistique et expression des résultats

Les paramètres statistiques (effectif, moyenne et écart-type) sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires. Ils sont ensuite recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne).

Dans les tableaux de résultats figurent, pour les groupes supérieurs à 10 participants : les effectifs non tronqués (n), les effectifs tronqués (nTr), la moyenne tronquée (mTr), l'écart-type tronqué (sTr) et le coefficient de variation (CVTr) calculé par la formule $100 \times sTr / mTr$.

Résultats des participants

1 - Titrage des IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne le titrage des IgG anti-toxoplasme, 2363 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (70%), soit avec deux réactifs (30%).

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondants à chaque technique sont rapportés dans le tableau XVIII.

Les conclusions (« négatif » ou « limite » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons n° 0413-0414 et 0417-0418 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XIX. Pour chacun des quatre autres échantillons qui contenaient des IgG anti-toxoplasme à des concentrations diverses, les résultats des titrages IgG ainsi que les conclusions données par les laboratoires en fonction de la technique utilisée sont rapportés dans les tableaux XX à XXIII.

Un bilan récapitulatif de l'année 2004, portant sur les neuf échantillons positifs en IgG des deux opérations 04PAR1 et 04PAR2 détaille :

- les pourcentages de conclusions « négatif » et « limite » en fonction du titre de l'échantillon et de la technique utilisée (tableau XXIV),
- la dispersion des titres obtenus par l'ensemble des réactifs immunoenzymatiques selon l'échantillon considéré (tableau XXV).

Tableau XVIII – Techniques/réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	2412 (78,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	1186
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	753
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	197
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	109
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	46
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	34
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	32
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	26
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	8
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmosse IgG"	8
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	6
DPC France "Immulite toxoplasmosse G"	6
SFRI "Toxo IgG"	1
<u>LATEX :</u>	423 (13,8%)
FUMOUCHE "Toxolax"	286
BIORAD "Pastorex Toxo"	91
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	30
SERVIBIO "Servitex Toxo"	1
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	83 (2,7%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	82
DADE BEHRING "Cellognost toxoplasmosis H"	1
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	71 (2,3%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	68
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	3
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	63 (2,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	63
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u>	6 (0,2%)
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	6
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	13 (0,5%)
Total	3071 (100%)

Tableau XIX – Echantillons négatifs 0413-0414 et 0417-0418

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1574	262	55	38	37	2	10	1978
Limite	1							1
Positif	8	1			1			10
total	1583	263	55	38	38	2	10	1989

Tableau XX - Echantillon 0415-0416

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	total
Positif	788	105	26	20	15	4	958
Limite	4	9	1		1		15
Négatif	6	4			1		11
total	798	118	27	20	17	4	984

Titres (UI/ml) obtenus en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.
n	789	15	18
m Tr	16	21	25
CV Tr (%)	38	16	21
Fourchette 2 écart-types	4 - 28	8 - 55	7 - 79

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	382	370	18,7	1,8	9,7
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	254	248	8,6	1,1	13,1
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	71	66	16,4	1,7	10,4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	38	36	30,4	2,5	8,3
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	16	16	54,3	1,6	3,0
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	8	8	NC	NC	NC
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	6	6	NC	NC	NC
<i>Tous réactifs confondus *</i>	789	759	15,8	6,0	38,0

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.

Tableau XXI – Echantillon 0419-0420

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Positif	781	142	26	25	18	2	6	1000
Limite	2	1		1				4
Négatif	5	1	1				1	8
total	788	144	27	26	18	2	7	1012

Titres (UI/ml) obtenus en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.
n	785	24	22
m Tr	24	28	39
CV Tr (%)	37	13	17
Fourchette 2 écart-types	6 - 43	11 - 67	12 - 132

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	379	367	30,5	2,8	9,1
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	254	246	12,6	2,1	16,4
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	65	63	25,5	3,0	11,7
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	37	37	31,5	3,2	10,1
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	22	21	61,4	2,5	4,1
DPC France "Immunité 2000 toxoplasmose G"	10	10	44,0	7,6	17,3
<i>Tous réactifs confondus *</i>	785	756	24,3	9,1	37,4

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.

Tableau XXII – Echantillon 0421-0422

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl. sens.	Immunoturb.	NP	Total
Positif	663	82	19	15	22	4	2	807
Limite	112	35	4	8	1			160
Négatif	8	32	3	2				45
total	783	149	26	25	23	4	2	1012

Titres obtenus (UI/ml) en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.
n	781	24	20
mTr	9	11	12
CV Tr (%)	36	15	19
Fourchette 2 écart-types	2 - 15	6 - 23	5 - 30

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	410	396	9,9	1,0	10,3
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	235	231	4,6	0,7	14,8
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	60	58	10,2	1,5	15,1
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	33	32	11,5	1,3	11,6
DPC France "Immunité 2000 toxoplasmose G"	12	11	14,7	2,0	13,3
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	10	10	21,8	6,7	30,7
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	7	7	NC	NC	NC
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	5	5	NC	NC	NC
<i>Tous réactifs confondus *</i>	781	768	8,6	3,1	36,3

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.

Tableau XXIII – Echantillon 0423-0424

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Positif	798	144	25	23	22	4	3	1019
Limite		1		1			1	3
Négatif		1						1
total	798	146	25	24	22	4	4	1023

Titres (UI/ml) obtenus en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.
n	797	25	22
m Tr	44	46	66
CV Tr (%)	36	16	17
Fourchette 2 écart-types	13 - 76	14 - 156	16 - 262

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	420	399	55,2	5,4	9,8
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	240	232	23,2	2,9	12,3
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	60	59	44,3	7,4	16,7
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	33	31	45,3	4,5	10,0
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	12	11	58,7	10,0	17,0
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	11	10	71,5	24,8	34,7
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	8	8	NC	NC	NC
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	5	5	NC	NC	NC
<i>Tous réactifs confondus *</i>	797	777	44,3	15,8	35,7

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.

Tableau XXIV – Bilan 2004 : % de conclusions « négatif » et « limite » en fonction du titre de l'échantillon

Opération	Echantillons	Titre moyen en IE (UI/ml)	% conclusions « négatif »			% conclusions « limite »
			toutes techniques confondues	IE	latex	toutes techniques confondues
04PAR1	0403-0404	6,4	7,3	3,0	40,7	40,6
04PAR2	0421-0422	8,6	4,4	1,0	21,4	15,8
04PAR1	0409-0410-0411-0412	15,5	1,0	0,5	3,6	1,2
04PAR2	0415-0416	15,8	1,1	0,8	3,4	1,5
04PAR2	0419-0420	24,3	0,8	0,6	0,7	0,4
04PAR1	0405-0406	34,8	0,1	0,1	0	0,1
04PAR2	0423-0424	44,3	<0,1	0	0,7	0,3
04PAR1	0407-0408	146,9	0	0	0	0

Tableau XXV – Bilan 2004 : Technique immunoenzymatique : titres et coefficients de variation

Opération	Echantillons	Titre en IgG (UI/ml)		CV (%)	
		le plus faible	le plus élevé	tous réactifs confondus	moyen par réactif
04PAR1	0403-0404	4,0	12,8	31,3	12,0
04PAR2	0421-0422	4,6	21,8	36,3	14,0
04PAR1	0409-0410-0411-0412	7,6	34,6	36,1	13,4
04PAR2	0415-0416	8,6	54,3	38,0	14,9
04PAR2	0419-0420	12,6	61,4	37,4	11,5
04PAR1	0405-0406	16,5	91,5	41,6	11,4
04PAR2	0423-0424	23,2	137,7	35,7	15,3
04PAR1	0407-0408	57,2	331,1	48,7	13,4

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 2347 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (90,7%), soit avec deux réactifs (9,3%).

Les techniques employées ainsi que le détail des réactifs correspondants à chaque technique sont rapportés dans le tableau XXVI. Pour chacun des échantillons, les conclusions rendues par les laboratoires participants en fonction de la technique utilisée sont rassemblées dans le tableau XXVII.

Tableau XXVI – Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</u>	2375 (92,6%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	1176
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	748
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	196
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	107
BAYER "ToxoM/ADVIA Centaur"	44
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse M"	33
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	25
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	13
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	10
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	8
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmosse IgM"	7
DPC France "Immulite toxoplasmosse M"	6
SFRI "Toxo IgM EIA"	1
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	1
<u>LATEX :</u>	76 (3,3%)
FUMOUCHE "Toxolater"	57
BIORAD "Pastorex Toxo"	11
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	6
SERVIBIO "Servitex Toxo"	2
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</u>	42 (1,6%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>HEMAGGLUTINATION (hémaggl):</u>	39 (1,5%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>ISAGA :</u>	23 (0,9%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (aggl.sens.):</u>	1 (<0,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP):</u>	10
Total	2566 (100%)

Tableau XXVII - Détection des IgM anti-toxoplasme : conclusions en fonction de la technique utilisée

Echantillon 0413 - 0414 - 0417 - 0418

Technique / Conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	IFI	ISAGA	NP	Total
Négatif	1565	52	28	22	12	5	1684
Total	1565	52	28	22	12	5	1684

Echantillon 0415 - 0416

Technique / Conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	ISAGA	IFI	NP	Total
Négatif	776	12	11	9	8	3	819
Positif	3	4					7
Total	779	16	11	9	8	3	826

Echantillon 0419 - 0420

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	Latex	ISAGA	NP	Total
Négatif	788	16	13	8	4	3	832
Positif	1			4			5
Total	789	16	13	12	4	3	837

Echantillon 0421 - 0422

Technique / Conclusion	IE	Latex	IFI	ISAGA	Hémaggl.	Aggl. sens.	NP	Total
Négatif	777	16	16	9	9	1	2	830
Limite				1				1
Positif	1	2						3
Total	778	18	16	10	9	1	2	834

Echantillon 0423 - 0424

Technique / Conclusion	IE	IFI	Latex	ISAGA	Hémaggl.	Aggl. sens.	NP	Total
Négatif	788	17	10	9	9	1	4	838
Limite				1				1
Positif	1		4					5
Total	789	17	14	10	9	1	4	844

Commentaires

L'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0413-0414 et 0417-0418 montre que la détection des IgG anti-toxoplasme ne pose pas de problème de spécificité avec dix (0,5%) faux positifs dont probablement cinq inversions d'échantillons (tableau XIX). De plus, il n'existe pas de relation entre le réactif utilisé et la fréquence des faux positifs observée.

En ce qui concerne les quatre échantillons qui contiennent des IgG anti-toxoplasme à différentes concentrations, deux points, déjà évoqués dans les annales de l'opération précédente (04PAR1) méritent d'être soulignés :

- plus le titre en IgG est faible, plus le nombre de conclusions «échantillon négatif» augmente pour atteindre un taux maximum de 4,4% avec l'échantillon 0421-0422 de titre faible en IgG.

Si l'on compare la sensibilité des deux techniques les plus utilisées (immunoenzymatique et latex) pour cet échantillon, on constate que la sensibilité de la technique au latex est faible avec 21,4% de faux négatifs (tableau XXII).

Pour rappel, l'échantillon 0403-0404 de l'opération précédente (04PAR1), dont le titre était inférieur de deux unités à celui de l'échantillon 0421-0422 avait également conduit à un pourcentage particulièrement élevé de réponses négatives (40,7%) avec cette technique (tableau XXIV).

- d'autre part, l'étude des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques montre une fois encore une dispersion importante des résultats. En effet, le coefficient de variation tous réactifs confondus varie de 31% pour le titre le plus faible à 49% pour le titre le plus élevé (tableau XXV). Ceci en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI les IgG anti toxoplasme. De plus, quelque soit l'échantillon testé, les titres extrêmes sont systématiquement obtenus avec les mêmes réactifs : titre le plus bas pour ABBOTT « Axsym Toxo IgG » et titre le plus élevé pour BAYER « Toxo G Advia Centaur ». C'est ainsi que le rapport « titre le plus élevé / titre le plus faible » varie de 3,2 à 6,3 selon l'échantillon considéré. Cette observation pose le problème de l'étalonnage des réactifs sérologiques et confirme l'impossibilité, pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose, de comparer les titres obtenus avec différents réactifs ; ce qui échappe parfois au clinicien.

Enfin, en ce qui concerne la détection des IgM anti toxoplasme, les plasmas utilisés pour la préparation des échantillons de cette opération de contrôle ne contenaient pas d'IgM anti *T. gondii*.

Si l'on considère de façon globale les résultats des 5025 tests réalisés par l'ensemble des 2347 laboratoires qui effectuent la recherche des IgM anti toxoplasme, on note 20 (0,4 %) conclusions incorrectes « positif ». Ce chiffre qui peut paraître élevé doit être relativisé car sur les 20 laboratoires qui ont rendu une conclusion « positif » pour un réactif, 16 ont utilisé un deuxième réactif et rendu avec ce dernier une conclusion correcte « négatif ».