

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin
Coprologie parasitaire ou arthropode
Mycologie
Sérologie de la toxoplasmose
Sérologie Larva migrans (toxocarose)

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

Expédition : 12 mai 2004

Clôture : 07 juin 2004

Edition des compte-rendus individuels : 07 septembre 2004

Paramètres contrôlés : **Frottis sanguin** : *Plasmodium falciparum*.

Coprologie ou arthropode : *Endolimax nanus*, *Pediculus humanus*, *Entamoeba coli*

Mycologie : *Aspergillus flavus*, *Microsporium gypseum*, *Cryptococcus neoformans*

Sérologie de la toxoplasmose

Sérologie Larva migrans (toxocarose)

Nombre de laboratoires concernés* : 4191

Nombre de laboratoires participants** : 3953

* 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 d'accès grave à *Plasmodium falciparum* contenant de nombreux schizontes à tous les stades de division a été adressé à l'ensemble des laboratoires inscrits en parasitologie. Près des trois quarts ont signalé la présence de *P. falciparum* bien que ce type de frottis soit très rarement rencontré en pratique courante et puisse de ce fait être considéré comme un « piège » diagnostic.

En ce qui concerne la coprologie parasitaire, les kystes d'*Endolimax nanus* souvent rencontrés au cours d'un examen parasitologique des selles ont été vus par un peu plus de la moitié des participants. Ce score est stable depuis de nombreuses années et la réponse erronée « absence de parasite » reste la plus fréquente (environ un quart des laboratoires) ce qui montre la difficulté à trouver ces petits kystes ovalaires à paroi mince et au cytoplasme hyalin. En revanche, l'identification des kystes d'*Entamoeba coli* avec 94% de diagnostics corrects ne pose pas de problème aux biologistes.

Quant aux lentes de poux présentes sur les cheveux distribués lors de cette opération de contrôle, bien que vides pour la plupart, leur morphologie caractéristique en ovale tronqué par l'ouverture arrondie et collée au cheveu était classique et sans confusion possible. Elles ont été reconnues par 93 % des participants.

En ce qui concerne la mycologie, on observe pour *Aspergillus flavus* une stagnation des résultats (52% de bonnes réponses) par rapport à l'envoi précédent en 1999 toujours due à une confusion avec l'espèce *A. fumigatus* qui concerne près d'un laboratoire sur quatre. Toutefois, le diagnostic de genre *Aspergillus* est en légère augmentation (+ 4%) et apparaît dans 92% des réponses.

Une souche de dermatophyte, *Microsporium gypseum*, était également proposée. Si le diagnostic de genre reste élevé (89%), seuls 66% des participants ont correctement identifié l'espèce, soit une baisse de 17% par rapport à l'envoi précédent en 2000. Bien que l'aspect macroscopique de la culture soit très caractéristique et nettement différent de celui de *M. canis*, c'est avec ce dernier qu'un laboratoire sur cinq a confondu *M. gypseum*.

Enfin, on note 81% de bons diagnostics pour *Cryptococcus neoformans* ce qui correspond au score le plus haut obtenu pour cette levure. Néanmoins, les caractères d'identification de cette espèce, notamment la présence d'une capsule, d'une uréase et d'un profil caractéristique d'assimilation de substrats carbonés associés au contexte clinique évocateur auraient dû permettre un score d'identification spécifique encore plus élevé.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2610 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'absence d'IgM dans tous les échantillons ainsi que d'IgG dans un des échantillons a bien été relevée par l'ensemble des laboratoires. En revanche, pour un même échantillon, le titrage des IgG par les tests ELISA conduit à des résultats très variables d'un réactif à l'autre (coefficient de variation moyen égal à 39%) et les tests au latex semblent les moins performants pour la détection de faibles titres d'IgG.

Trente neuf laboratoires en majorité hospitaliers ont testé les deux échantillons destinés au sérodiagnostic de Larva migrans. L'échantillon « positif » a été diagnostiqué comme tel par tous les participants tandis que l'échantillon « limite » a conduit à des résultats discordants selon la technique utilisée.

Frottis sanguin

Echantillons DONGBA, GUPTA, OGUN, KOMBILA, AKAKPO et NDAYO

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*.

Stades : Trophozoïtes, schizontes jeunes, schizontes âgés et gamétocytes.

Richesse du frottis : environ 30 % d'hématies parasitées.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 3780 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

Le bilan des différentes espèces de Plasmodium diagnostiquées est rapporté dans le tableau II.

Tableau I - Ensemble des réponses des 3780 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	71,7	77,7
Schizontes jeunes		47,5	
Schizontes âgés		61,6	
Gamétocytes		13,5	
divers/non précisés		0,7	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	8,2	11,3
Schizontes jeunes		5,3	
Schizontes âgés		8,3	
Gamétocytes		2,4	
divers/non précisés		0,3	
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	7,3	9,8
Schizontes jeunes		4,7	
Schizontes âgés		7,4	
Gamétocytes		2,1	
divers/non précisés		0,8	
Trophozoïtes	<i>P. malariae</i>	4,7	6,9
Schizontes jeunes		3,0	
Schizontes âgés		4,9	
Gamétocytes		1,2	
divers/non précisés		0,3	
divers/non précisés	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
divers/non précisés	Protozoaires divers		0,4
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			1,4

Tableau II - Bilan des différentes espèces de Plasmodium diagnostiquées

Espèces	% de laboratoires
<i>P. falciparum</i>	71,7
<i>P. vivax</i>	8,6
<i>P. ovale</i>	6,8
<i>P. malariae</i>	4,5
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	2,9
<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	2,7
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	2,4
<i>P. vivax</i> + <i>P. ovale</i>	0,3
<i>P. vivax</i> + <i>P. malariae</i>	0,1
<i>P. ovale</i> + <i>P. malariae</i>	< 0,1

Commentaires

A l'occasion de l'opération de contrôle en parasitologie 04PAR1 qui s'est déroulée en juin 2004, un frottis sanguin coloré au MGG a été adressé pour recherche de paludisme à l'ensemble des laboratoires ayant déclaré réaliser cette analyse. Ce frottis préparé à partir d'un unique tube de sang pour hémogramme était accompagné des renseignements cliniques suivants : patient de 41 ans splénectomisé, originaire de République centrafricaine, en France depuis 6 mois, hospitalisé pour fièvre.

Il s'agissait d'un accès pernicieux à *Plasmodium falciparum* (30% d'hématies parasitées) pour lequel tous les stades de développement du parasite étaient retrouvés en proportion variable sur le frottis :

- Les **trophozoites** jeunes mais aussi âgés avec des taches de Maurer caractéristiques étaient les éléments majoritaires. On pouvait remarquer des hématies bi ou tri parasitées ainsi que des trophozoites faisant saillie sur le bord de l'hématie (photos 1 et 2).

- De nombreux **schizontes** à différents stades de division (2, 4, 8 noyaux et plus) jusqu'au schizonte mûr (**corps en rosace avec 20 à 24 noyaux**) étaient également présents (photo 1). Les schizontes ne sont en règle générale, pas observés sur les frottis de cette espèce lorsque la richesse en hématies parasitées est inférieure à 10%. Lorsque la parasitémie est très élevée (forme grave, accès pernicieux) la présence possible de schizontes et de rosaces dans le sang périphérique a été rapportée et peut être interprétée comme un signe de gravité.

- Enfin, ce sang parasité contenait de **rare gamétocytes jeunes** aux extrémités arquées pointues, caractéristiques de l'espèce mais qui pouvaient ne pas être retrouvés sur tous les frottis (photo 1).

L'étude des éléments sanguins permettait de constater la présence non seulement d'hématies nucléées et de corps de Jolly en rapport avec la splénectomie signalée dans les renseignements cliniques mais aussi de leucocytes mélanifères (photos 2 et 3).

C'était la troisième fois qu'un frottis sanguin d'accès pernicieux à *P. falciparum* contenant de nombreux schizontes à tous les stades de division était testé dans le cadre du contrôle national de qualité. Ce type de frottis, rare, a dérouté certains biologistes et a été source de confusions avec les trois autres espèces plasmodiales. En effet, 71,7% des laboratoires ont rendu un diagnostic correct (*P. falciparum* uniquement). En revanche, plus du quart des laboratoires (27,9%) a diagnostiqué une autre espèce, soit seule (*P. vivax* : 8,6%, *P. ovale* : 6,8%, *P. malariae* : 4,5%), soit associée à *P. falciparum* (8%). Apparemment, la notion d'une absence de schizontes dans le sang périphérique lors d'un accès simple à *P. falciparum* est bien connue. En revanche, certains biologistes ignorent leur présence possible en cas d'accès pernicieux à parasitémie élevée comme le montrent les deux extraits de courriers suivants : «*La présence de schizontes rarissimes dans le sang périphérique ne nous semblait pas compatible avec un falciparum.*» ou bien «*Je n'ai jamais eu l'occasion de voir des rosaces dans les paludismes à P. falciparum, y compris dans les accès pernicieux.*»

En conclusion, bien que ce frottis ne soit pas «évident», près des trois quarts des laboratoires ont fait le bon diagnostic. Néanmoins, un laboratoire sur cinq n'a pas signalé la présence de *P. falciparum* malgré la richesse du frottis en différentes formes caractéristiques de cette espèce. Dans un contexte d'accès grave, la présence de schizontes ne doit pas conduire à exclure *P. falciparum*. Elle constitue un élément de mauvais pronostic, notamment chez les patients splénectomisés pour lesquels il s'agit dans tous les cas de formes graves, souvent mortelles.

J.C. PETITHORY et F. ARDOUIN, Centre Hospitalier – Gonesse

Bibliographie

- 1- Demar M., Legrand E., Hommel D., Esterre P., Carme B. *Plasmodium falciparum* malaria in splenectomized patients : two case reports in French Guiana and a literature review. *Am J Trop Med Hyg* 2004 ; 71: 290-293.
- 2- Field J.W. et al. The microscopical diagnosis of human malaria. vol.1 p.102 – Kuala Lumpur, 1963.
- 3- Garnham PCC. Malaria parasites and haemosporidia. Ed : Blackwell, 1966, London.
- 4- Petithory J.C., Khelil A., Galéazzi G., Ardouin F. Paludisme grave chez des patients splénectomisés. Trois cas mortels. *Presse Med* 2005 ; 34 ; 519-521.
- 5- Silamut K., White N.J. Relation of the stage of parasite development in the peripheral blood to prognosis in severe *falciparum* malaria. *Trans R Soc trop Med Hyg* 1993 ; 87 : 436-443.

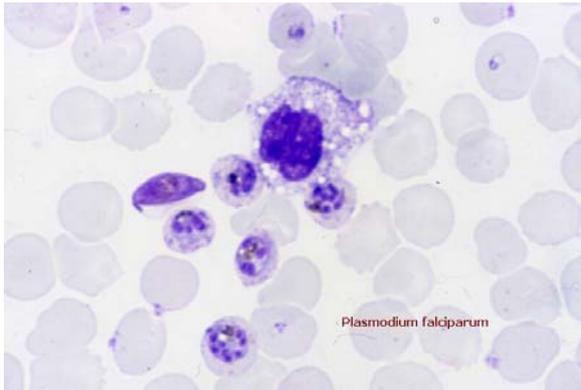


Photo 1 :

Cinq schizontes, deux trophozoïtes faisant saillie sur le bord de l'hématie en bas à gauche , un jeune gamétoocyte au dessus.
Obj. X100

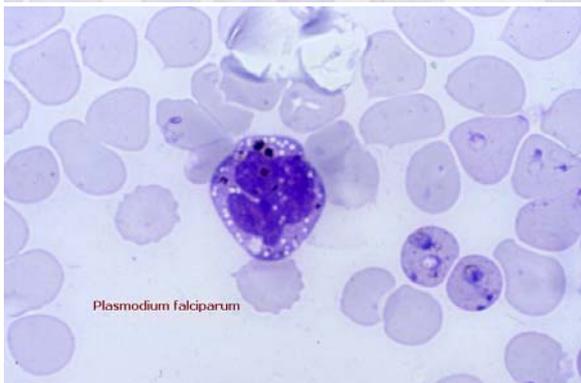


Photo 2 :

Au centre, un grand monocyte avec quelques grains de pigment.
En bas à droite, deux hématies polyparasitées par des trophozoïtes et avec des taches de Maurer.
Obj. X100

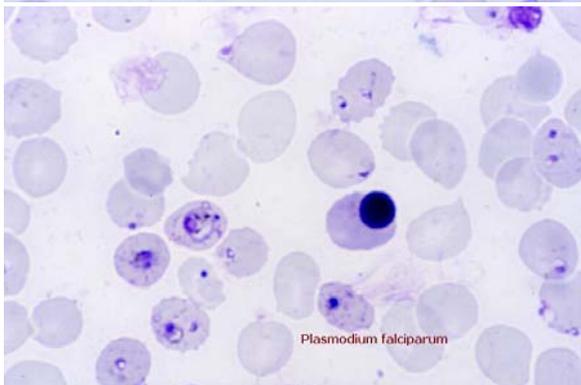


Photo 3 :

Trophozoïtes jeunes et âgés avec taches de Maurer.
Deux trophozoïtes faisant saillie sur le bord de l'hématie (en haut et en bas à droite).
Un érythroblaste acidophile et une hématie avec un corps de Jolly.
Obj. X100

Coprologie parasitaire

1 - Echantillons DAGUE et GIARD

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 : *Endolimax nanus*

Stade : kyste

Richesse de la selle : 1 champ au X40 pour trouver un kyste

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche systématique de parasites intestinaux chez une élève infirmière.



Trois kystes d' *Endolimax nanus* .
Coloration au lugol.
Obj. X100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1261 laboratoires participants à cette opération de contrôle ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau III.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des huit envois précédents d'une selle contenant des kystes d' *E. nanus* sont rapportés dans le tableau IV.

Tableau III - Bilan des 1261 réponses.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Kyste		51,0	
Forme végétative	<i>Endolimax nanus</i>	0,8	51,9
Stades divers/non précisés		0,8	
Stades divers/non précisés	<i>Entamoeba hartmanni</i>		5,4
Stades divers/non précisés	<i>Ascaris lumbricoides</i>		4,9
Stades divers/non précisés	<i>Entamoeba coli</i>		4,2
Stades divers/non précisés	<i>Blastocystis hominis</i>		2,4
Stades divers/non précisés	<i>Giardia intestinalis</i>		1,7
Stades divers/non précisés	Protozoaires divers		3,5
Stades divers/non précisés	Helminthes divers		0,7
Kyste	Non précisé		0,4
ABSENCE DE PARASITE			27,5
PAS DE REPONSE			1,0
EXAMEN TRANSMIS			1,6

Tableau IV - Bilan des neuf opérations de contrôle « Kystes d'*Endolimax nanus* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de bonnes réponses « <i>E. nanus</i> »	% réponse « absence de parasite »
2004	1261	1	51,9	27,5
1998	1225	2 - 5	49,6	22,8
1995	1224	1	50,0	31,4
1992	2406	1	52,0	19,7
1989	1139	1 - 5	39,8	18,9
1987	1123	< 1	61,5	6,1
1985	1029	1 - 3	49,2	11,9
1984	1024	1 - 2	46,0	15,3
1983	1016	0,5 - 2	27,1	31,3

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

Commentaires

La selle DAGUE ou GIARD formolée contenait des kystes d'*Endolimax nanus* (précédemment appelé *Endolimax nana*). Les préparations étaient relativement riches : au moins un parasite repérable par champ microscopique à l'objectif 40. Ces protozoaires incidents, peu ou pas pathogènes sont parmi les amibes coliques les plus fréquemment observées, souvent associées à *Entamoeba coli*.

E. nanus est régulièrement isolé chez plus de 2% des métropolitains, 10% des maghrébins, 20% des africains sub-sahariens et moyen-orientaux lors d'un examen parasitologique des selles. Cependant, leur petite taille, leur aspect optiquement vide à l'état frais, sont cause de leur méconnaissance. Les kystes d'*E. nanus* se caractérisent par leur forme ronde à ovale plus ou moins allongée, mesurant de 5 à 12 µm de long sur 3 à 7µm de large. Leur paroi est assez fine. A l'état frais, leur cytoplasme est hyalin, sans vacuole, ni cristalloïde. Après coloration ou dans une solution formolée, on distingue de 1 à 4 noyaux caractéristiques : la structure nucléaire est visible sous la forme de grains réfringents, correspondant au caryosome (situé en position centrale punctiforme, ou en position périphérique en forme de croissant), entouré d'un petit halo clair.

G. GALEAZZI, Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Louis Mourier - Colombes

2 - Echantillons OLIVET et KACHOU

Définition de l'échantillon

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

Nom du parasite : *Pediculus humanus var. capitis*

Stade : lente

Richesse du prélèvement : au moins une lente par cheveu.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sur un cheveu d'enfant ayant d'importantes démangeaisons du cuir chevelu.



Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1270 laboratoires participants à cette opération de contrôle ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau V.

Tableau V - Bilan des 1270 réponses.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Lente	<i>Pediculus humanus</i> <i>var. capitis</i>	81.3	92,6
Oeuf		8.5	
Stades divers/non précisés		4.6	
Stades divers/non précisés	Parasites divers		0,4
ABSENCE DE PARASITE			2,2
PAS DE REPONSE			2,0
EXAMEN TRANSMIS			2,8

Commentaires

Le pou de tête, *Pediculus humanus capitis* de Geer, 1778, est responsable d'une affection cosmopolite bénigne et très répandue, la pédiculose. En France, la prévalence est de 5 à 20% dans les écoles. L'œuf (lente) est fixé à la racine du cheveu par une sorte de glu qui sèche immédiatement ; il éclot en dix jours en moyenne. La larve devient adulte reproducteur en dix à quinze jours. La durée de vie est d'environ 4 à 6 semaines et la transmission se fait lors d'un contact, tête contre tête.

La mise en évidence des lentes et parfois des poux permet de confirmer le diagnostic évoqué sur les lésions de grattage. Les lentes les plus rapidement repérées sont les lentes vides et les lentes mortes. Elles ressemblent à des pellicules blanchâtres ou grisâtres, ternes, collées aux cheveux et résistant au brossage et au lavage ; elles sont éloignées de un à plusieurs centimètres de la racine des cheveux ; leur présence témoigne d'une infestation ancienne, datant de plusieurs semaines, voire plusieurs mois et ne correspond pas toujours à une parasitose patente. Un sujet bien traité peut rester porteur de lentes vides ou mortes.

Les lentes (moins de 1 mm) renfermant un embryon vivant sont bombées, brillantes ; très près du cuir chevelu (nuque, autour des oreilles et sur la frange frontale). Elles sont plus faciles à repérer sur des cheveux blonds grâce à leur couleur caramel. Sur des cheveux foncées, elles sont brunes, voire noires et plus difficiles à observer. Leur présence témoigne d'une parasitose patente.

A. IZRI et J.-J. ROUSSET, Université Paris 13, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie - Bobigny.

3 - Echantillons ACHER et NIVET

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 : *Entamoeba coli*

Stade : kyste

Richesse de la selle : 4 à 8 champs au X40 pour trouver un kyste

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites chez une malade se plaignant de troubles intestinaux.



Deux kystes : un de 18,5 µm et l'autre de 14,5 µm
Examen direct
Obj.X100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1249 laboratoires participants à cette opération de contrôle ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VI.
Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'une selle contenant des kystes d' *Entamoeba coli* sont rapportés dans le tableau VII.

Tableau VI- Bilan des 1249 réponses.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Kyste	<i>Entamoeba coli</i>	91,3	93,7
Forme végétative		1,0	
Oeuf		1,5	
Stades divers/non précisés		0,6	
Stades divers/non précisés	<i>Entamoeba histolytica / dispar</i>		2,2
Stades divers/non précisés	Protozoaires divers		2,0
Stades divers/non précisés	Helminthes divers		0,2
ABSENCE DE PARASITE			1,1
PAS DE REPONSE			0,8
EXAMEN TRANSMIS			1,7

Tableau VII - Bilan des six dernières opérations de contrôle « Kystes d'*Entamoeba coli* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de bonnes réponses « <i>Entamoeba coli</i> »
2004	1249	4 - 8	93,7
2003	1313	5 - 10	95,6
2001	1297	5 - 10	93,2
2000	1288	6 - 10	94,3
1999	1332	10 - 15	93,8
1996	1217	2	93,8

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

Commentaires

La selle ACHER ou NIVET contenait des kystes d'*Entamoeba coli*. C'est le kyste le plus fréquent et le plus facile à reconnaître (94% des participants ont bien répondu). Certains ont signalé la présence d'œufs d'*E. coli*, peut-être ignorent-ils que les amibes ne pondent pas ! D'autres ont répondu kystes d'*Entamoeba histolytica* : il est vrai que la préparation contenait des kystes dont certains mesuraient 13-14µm pouvant prêter à confusion, mais le diagnostic d'espèce ne repose pas uniquement sur la taille même si c'est un critère important.

Le kyste d'*Entamoeba coli* a une coque très épaisse et très réfringente (presque noire). Il mesure en moyenne 14 à 18 µm (certains pouvant être plus petits ou plus grands), son cytoplasme hyalin, clair, homogène peut contenir un ou plusieurs cristoïdes en aiguille. Il contient 8 noyaux quand il est mûr mais on peut trouver des kystes à tous les stades de division avec 1 à 8 noyaux et même 16 ou 32. La structure du noyau est caractérisée par une chromatine périphérique irrégulière et un caryosome souvent épais et excentré.

Le kyste d'*E. histolytica/dispar* a une coque moins nette et moins réfringente. Il mesure 12 à 14 µm, son cytoplasme est clair mais apparaît comme grossièrement chagriné. Les noyaux, au nombre de 1 à 4 sont caractérisés par une chromatine régulière et un caryosome petit et souvent central. Les cristoïdes sont épais et à bouts arrondis (comme un cigare).

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

Mycologie

1 - Echantillons DIAZ ou GALLEY

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche d'*Aspergillus flavus* sur milieu à l'extrait de malt à 2%. 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 : isolement obtenu chez un patient de 59 ans ayant développé une sinusite maxillaire compliquant la pose d'un amalgame dentaire.



Aspergillus flavus
Aspect macroscopique



Aspergillus flavus
Aspect microscopique

Résultats des participants

Le bilan des diagnostics transmis par les 1261 laboratoires participants à cette opération de contrôle est détaillé dans le tableau VIII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des quatre envois précédents d'une souche d'*A. flavus* sont rapportés dans le tableau IX.

Tableau VIII - Bilan des 1261 réponses.

Diagnostic	%
<i>Aspergillus flavus</i>	52,2
<i>Aspergillus fumigatus</i>	24,1
<i>Aspergillus nidulans</i>	6,3
<i>Aspergillus niger</i>	5,7
<i>Aspergillus versicolor</i>	1,7
<i>Aspergillus terreus</i>	1,2
<i>Aspergillus autres</i>	0,6
mucoracées	2,4
Filamenteux divers	1,2
Levures diverses	0,3
Pas de réponse	0,6
Examen transmis	3,7

Tableau IX - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Aspergillus flavus* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de bonnes réponses « <i>Aspergillus flavus</i> »	% deuxième réponse « <i>Aspergillus fumigatus</i> »
2004	1261	52,2	24,1
1999	1316	54,8	22,7
1994	1157	39,3	33,7
1989	1156	38,2	39,7
1981	779	34,2	44,7

Commentaires

Aspergillus flavus est un champignon filamenteux, très répandu dans la nature, cosmopolite mais plus fréquemment isolé dans les zones tropicales et sub-tropicales. Il est retrouvé surtout dans les sols cultivés. Il se développe souvent sur les graines de diverses céréales comme le maïs, le riz ou l'avoine, mais aussi sur la canne à sucre. En Afrique, il se développe dans le fruit de l'arachide et peut produire, dans les produits alimentaires dérivés, une aflatoxine considérée comme un co-facteur du cancer primitif du foie.

Aspergillus flavus peut également être isolé dans les poussières de maison (Pieckova et al, *Ann Agric Environ Med*, 2004 ; 11 : 67-73). A la suite de plusieurs cas de contamination post-opératoire (transplantation cardiaque) par *A. flavus*, des prélèvements d'air et de surface ont été faits dans le bloc opératoire et dans plusieurs secteurs adjacents, montrant une grande quantité de spores d'*A. flavus* du même génotype que celui des patients (Heinemann S, *J Hosp Infect*, 2004 ; 57 : 149-55).

A. flavus est le deuxième *Aspergillus* isolé chez les patients après *A. fumigatus*. Il peut être responsable d'atteintes pulmonaires, en particulier d'aspergilloses invasives mais aussi d'aspergillomes, et d'atteintes ORL (sinusites et otites externes). Ont également été décrits des cas d'aspergillome rénal (Khan ZU, *Clin Infect Dis*, 1995 ; 21 : 210-2 et Pérez-Arellano JL, *J Infect*, 2001 ; 42 : 163-5), d'endocardites (Irles D, *Arch Mal Cœur Vaiss*, 2004 ; 97 : 172-5), de kératites, de nodules sous-cutanés (La Nasa G, *Hematol J*, 2004 ; 5 : 178-80).

L'identification de cette espèce repose sur les éléments suivants :

- examen macroscopique : colonie poudreuse, jaune-vert à vert olive en vieillissant ; revers le plus souvent incolore.

- examen microscopique : les têtes aspergillaires sont radiaires ou en colonne ; le conidiophore est long (400 à 800 µm jusqu'à 2500 µm), incolore, rugueux (rugosités visibles surtout près de l'apex) ; la vésicule est hémisphérique, de taille variable ; les phialides sont directement insérées sur la vésicule ou portées par des métules ; les conidies sont globuleuses, vert pâle, lisses ou finement échinulées .

Le diagnostic différentiel avec les autres espèces d'*Aspergillus* repose sur deux éléments très caractéristiques :

- l'aspect jaune-vert des colonies pour *A. flavus* (bleu-vert pour *A. fumigatus*, vert foncé (cresson) pour *A. nidulans*, noir pour *A. niger*, de couleur variée, verte, jaune ou rose, parfois sur une même colonie, avec un aspect concentrique caractéristique pour *A. versicolor*, beige cannelle pour *A. terreus*)
- le conidiophore rugueux pour *A. flavus* et lisse pour les autres espèces.

M.A. PIENS, Laboratoire Parasitologie-Mycologie, Hospices civils de Lyon.

2 - Echantillons OMARI et KEVIN

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Microsporium gypseum* sur milieu à l'extrait de malt à 2%. 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 : culture d'un prélèvement cutané de l'avant bras droit chez un enfant de 3 ans ayant joué dans un bac à sable.

Résultats des participants

Le bilan des diagnostics transmis par les 1270 laboratoires participants à cette opération de contrôle est détaillé dans le tableau X.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'une souche de *Microsporium gypseum* sont rapportés dans le tableau XI.

Tableau X - Bilan des 1270 réponses.

Diagnostic	%
<i>Microsporium gypseum</i>	65,2
<i>Microsporium canis</i>	20,3
<i>Microsporium persicolor</i>	3,8
<i>Trichophyton mentagrophytes variété interdigitale</i>	2,6
<i>Epidermophyton floccosum</i>	1,6
<i>Trichophyton rubrum</i>	1,5
Filamenteux divers	1,0
Pas de réponse	0,6
Examen transmis	3,4

Tableau XI - Bilan des six opérations de contrôle « *Microsporium gypseum* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de bonnes réponses « <i>Microsporium gypseum</i> »	% deuxième réponse « <i>Microsporium canis</i> »
2004	1270	65,2	20,3
2000	1305	82,5	9,9
1995	1182	78,2	12,5
1991	1168	71,9	13,4
1988	1145	60,8	23,0
1980	863	65,9	17,2

Commentaires

Microsporium gypseum est un dermatophyte ubiquiste d'origine tellurique. La contamination humaine se fait essentiellement par contact direct des parties découvertes du corps avec le sol. Elle détermine le plus souvent un herpes circiné d'évolution rapide. On peut observer plus rarement des lésions inflammatoires à type de folliculite ou de teigne. La contamination animale n'est pas rare (notamment des petits mammifères sauvages) avec ou sans lésion apparente du pelage.

La souche proposée pour cette opération de contrôle pousse rapidement sur milieu de Sabouraud (plusieurs centimètres de diamètre en 8 à 10 jours) et se présente sous forme de colonies plates, poudreuses ou finement granuleuses avec de courts rayons périphériques, de couleur chamois à beige. L'envers se colore en brun à brun rouge foncé avec le temps.

A l'examen microscopique, on observe de nombreuses macroconidies en navette, à paroi mince, échinulées, à extrémité aiguë, isolées ou groupées en bouquets terminaux. Elles mesurent de 30 à 60 µm de long sur 8 à 15 µm de large et comportent 3 à 6 logettes. Leur extrémité distale est quelquefois pourvue d'un court appendice flagellé chez les souches fraîchement isolées. On trouve par ailleurs des microconidies piriformes souvent peu abondantes.

Diagnostic différentiel avec les dermatophytes suivants :

- *Microsporium canis* (20,3% des réponses)

Il se différencie nettement de *M. gypseum* par l'aspect duveteux à floconneux de sa culture devenant poudreux au centre avec le temps, de couleur blanche à chamois clair et dont l'envers est jaune à orangé. Les macroconidies, en navette, renflées au centre, à extrémité distale très pointue, échinulées, à paroi épaisse sont en général moins abondantes. Elles mesurent de 30 à 100 µm de long et de 8 à 20 µm de large et comportent 6 à 10 logettes. Les microconidies sont rares et souvent absentes.

- *Microsporium persicolor* (3,8% des réponses)

Cette espèce présente des cultures à croissance rapide, poudreuses, de couleur beige prenant rapidement un aspect de feutre ou de moquette rase devenant beige rosé (peau de pêche), surtout sur milieux non sucrés. Microscopiquement, on observe de nombreuses microconidies rondes en buisson. Le mycélium épais donne naissance à de nombreuses vrilles. Les macroconidies sont rares et assez semblables à celles de *T. mentagrophytes*.

- *Trichophyton mentagrophytes* (2,6% des réponses)

Comme pour *M. gypseum*, la culture est rapide, plate et poudreuse, lui donnant un aspect plâtreux typique, de couleur blanche à beige. L'envers de la culture est variable, incolore ou pigmenté de rouge foncé. Microscopiquement, on observe de très nombreuses conidies rondes ou piriformes en grappe ou en acladium, des vrilles et de rares macroconidies en massue, lisses, à paroi mince et à extrémité distale arrondie.

- *Epidermophyton floccosum* (1,6% des réponses)

La culture se présente sous forme d'un mycélium ras, poudreux, grisâtre, se plissant inégalement au centre pour prendre un aspect cérébriforme avec le temps. L'envers de la culture est beige à orange. Microscopiquement, on observe de nombreuses macroconidies en forme de massue, regroupées en bouquets, à paroi mince et comportant 2 à 5 logettes. Absence totale de microconidies.

En résumé, *M. gypseum* est un champignon tellurique, ubiquiste, occasionnellement isolé chez l'homme à partir de lésions cutanées siégeant sur les parties découvertes du corps (herpes circiné le plus souvent). Son identification repose d'une part sur ses colonies plates, poudreuses, chamois à beige dont l'envers est coloré en brun à brun rouge et d'autre part sur ses macroconidies en navette, souvent nombreuses, pointues, échinulées, cloisonnées, à paroi mince. Les microconidies piriformes sont souvent peu nombreuses.

M. MALLIE, Laboratoire Parasitologie-Mycologie, UFR des Sciences pharmaceutiques et Biologiques – Montpellier

3 - Echantillons ADOUR et NADAL

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Cryptococcus neoformans* 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 : culture d'un LCR d'une femme de 28 ans originaire de Côte d'Ivoire chez laquelle une sérologie VIH vient d'être découverte positive dans un contexte de fièvre et de céphalées persistantes.

Résultats des participants

Le bilan des diagnostics transmis par les 1249 laboratoires participants à cette opération de contrôle est détaillé dans le tableau XII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des six envois précédents d'une souche de *Cryptococcus neoformans* sont rapportés dans le tableau XIII.

Tableau XII - Bilan des 1249 réponses.

Diagnostic	%
<i>Cryptococcus neoformans</i>	80,6
<i>Cryptococcus sp.</i>	6,6
<i>Trichosporon sp.</i>	1,2
Candida divers	1,4
Autres levures	1,7
Pas de réponse	1,5
Examen transmis	7,0

Tableau XIII - Bilan des sept opérations de contrôle « *Cryptococcus neoformans* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de bonnes réponses « <i>Cryptococcus neoformans</i> »	% deuxième réponse « <i>Cryptococcus sp.</i> »
2004	1249	80,6	6,6
1999	1323	70,7	9,8
1995	1261	68,4	14,2
1989	1138	76,8	4,2
1986	1018	68,9	12,7
1983	990	81,5	
1981	810	75,5	

Commentaires

Cryptococcus neoformans, sensible au cycloheximide (ACTIDIONE®), ne peut être isolé que sur les milieux ne contenant pas cet antifongique. Sur le milieu de Sabouraud les colonies poussent en 3 à 4 jours. D'aspect muqueux, de couleur blanche au départ, elles deviennent crèmes puis ocre en une dizaine de jours. Cette levure pousse aussi bien à 25°C qu'à 37°C. Sur le plan microscopique les colonies donnent des

levures rondes ou ovalaires de 2 à 6 microns de diamètre, se reproduisant par bourgeonnement unique ou multiple à base étroite d'implantation. Habituellement, elles ne produisent pas de filaments. L'élément caractéristique est la capsule. Les cryptocoques sont les seules levures capsulées que l'on trouve à l'état pathologique. Celle-ci est plus ou moins marquée au début. Il convient alors de repiquer l'isolat sur milieu PCB, gélose à l'extrait de malt ou encore corn meal-agar pour stimuler la production des polysaccharides capsulaires. La pousse à 37°C est en faveur de l'espèce *C. neoformans*. Les autres *Cryptococcus* « non *neoformans* », tels que *C. albidus*, *C. laurentii*, *C. terreus*, *C. uniguttalatus* ne poussent pas au-delà de 30°C. Le diagnostic de *Cryptococcus neoformans* doit être confirmé par des tests physiologiques :

- la recherche d'une uréase. Celle-ci doit être positive en moins de 4 h (avec les autres cryptocoques, ce test est positif en 24 h).

- l'absence de fermentation des sucres.

- l'assimilation de certains composés comme le galactose, l'inositol, le maltose et le saccharose .

- La présence d'une phénoloxydase : ce test est inclus dans la galerie Fongiscreen de Biorad®) ou révélée par la croissance brune sur milieu à base de graines de Niger (*Guizotia abyssinica*).

L'identification du sérotype (A, B, C ,D) n'est pas indispensable au diagnostic mais elle donne des renseignements intéressants sur l'épidémiologie (origine géographique).

La cryptococcose à *C. neoformans* est à redouter chez des sujets VIH, surtout si leur numération CD4 est inférieure à 200 par mm³. Sa découverte permet d'affirmer le stade Sida chez cette patiente séropositive.

Les signes cliniques ne sont pas spécifiques, la fièvre et les céphalées pouvaient aussi faire évoquer un paludisme à *Plasmodium falciparum* compte tenu de son origine africaine. C'est le contexte épidémiologique (sujet VIH) qui doit faire pratiquer la ponction et l'examen du LCR. Ce sont les examens de choix pour affirmer le diagnostic. Les autres espèces de *Cryptococcus* (pouvant être différenciées par des tests physiologiques) sont plus rarement impliquées chez le sujet VIH. Les levures appartenant au genre *Trichosporon* sont filamenteuses et ne produisent pas de capsules. Les souches filamenteuses de *C. neoformans* sont exceptionnelles.

D. CHABASSE, Laboratoire Parasitologie-Mycologie, C.H.U. – Angers.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2610 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons dont les numéros sont les suivants ont été proposés : n° 0401-0402, n° 0403-0404, n° 0405-0406, n° 0407-0408, n° 0409-0410, n° 0411-0412. Les deux derniers échantillons étaient identiques.

Aucun échantillon ne contenait d'IgM anti-toxoplasme. La concentration en IgG spécifiques était variable d'un échantillon à l'autre et nulle pour le n° 0401-0402.

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, 2404 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (73,4%), soit avec deux réactifs (26,6%).

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

Les conclusions (négatif ou limite ou positif) rendues par les laboratoires ayant testé l'échantillon n° 0401-0402 négatif en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XV.

Pour chacun des cinq 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 XVI à XIX.

Tableau I – Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	2451 (80,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	1223
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	770
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	164
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	107
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	43
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	39
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	33
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	25
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	15
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	8
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmosse IgG"	5
DPC France "Immulite toxoplasmosse G"	4
SFRI "Toxo IgG"	4
ABBOTT "Toxo G EIA Diagnostic kit"	3
TOSOH BIOSCIENCE "AIA Pack toxoplasma IgG 2V"	2
BIOMERIEUX "Toxo Elisa test G"	2
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	2
BIOMERIEUX "Toxoplasma gondii IgG MAGIA"	1
TOSOH BIOSCIENCE "Toxo IgG ELISA"	1
<u>LATEX :</u>	345 (11,3%)
FUMOUCHE "Toxolater"	225
BIORAD "Pastorex Toxo"	77
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	27
SERVIBIO "Servitex Toxo"	16
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	86 (2,8%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	85
DADE BEHRING "Cellognost toxoplasmosis H"	1
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	70 (2,3%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	67
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	3
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	60 (2,0%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	60
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u>	7 (0,2%)
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	7
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	24 (0,8%)
Total	3043 (100%)

Tableau XV – Echantillon n° 0401-0402Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	total
Négatif	818	115	27	19	14	10	1003
Limite	4						4
Positif	3	1					4
total	825	116	27	19	14	10	1011

Tableau XVI – Echantillon n° 0403-0404Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE (%)	Latex (%)	Hémaggl. (%)	Aggl.sens. (%)	IFI (%)	NP (%)	Total (%)
Négatif	25 (3,0)	46 (40,7)	2 (7,4)	1 (5,0)			74 (7,3)
Limite	362 (43,7)	19 (16,8)	13 (48,1)	5 (25,0)	8 (57,1)	4 (40,0)	411 (40,6)
Positif	441 (53,3)	48 (42,5)	12 (44,5)	14 (70,0)	6 (42,9)	6 (60,0)	527 (52,1)
total	828	113	27	20	14	10	1012

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

	IE	Hémaggl.	IFI
n	816	23	13
mTr	6	13	9
CV Tr	31	42	10
Fourchette 2 écart-types	2 - 10	2 - 110	6 - 14

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	400	394	7,4	0,9	12,1
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	256	249	4,0	0,6	15,0
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	59	57	7,1	1,1	15,5
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	39	38	11,0	1,0	9,1
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	13	12	12,8	1,3	10,1
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	12	12	10,8	1,1	10,2
Tous réactifs confondus	816	779	6,4	2,0	31,3

Tableau XVII – Echantillon n° 0405-0406

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1							1
Limite			1					1
Positif	795	98	26	27	17	2	9	974
total	796	98	27	27	17	2	9	976

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

	IE	IFI	Hémaggl.	Latex
n	802	29	24	9
m Tr	35	33	40	31
CV Tr	42	15	14	8
Fourchette 2 écart-types	6 - 64	12 - 96	14 - 116	18 - 54

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	393	388	45,7	5,3	11,6
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	260	247	16,5	2,4	14,5
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	55	51	32,3	3,4	10,5
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	33	30	38,9	3,4	8,7
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	21	20	91,4	4,2	4,6
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	11	10	55,5	5,9	10,6
Tous réactifs confondus	802	769	34,8	14,5	41,6

Tableau XVIII – Echantillon n° 0407-0408

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Positif	796	100	28	26	17	2	9	978
total	796	100	28	26	17	2	9	978

Titres obtenus en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.	Latex
n	798	29	23	9
m Tr	147	121	157	100
CV Tr	49	11	9	7
Fourchette 2 écart-types	4 - 290	43 - 340	66 - 372	53 - 340

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	393	374	192,7	29,5	15,3
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	261	254	57,2	9,0	15,7
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	56	53	195,9	35,4	18,1
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	33	32	166,8	24,6	14,8
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	21	19	331,1	10,5	3,2
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	11	10	232,0	31,9	13,8
Tous réactifs confondus	798	776	146,9	71,5	48,7

Tableau XIX – Echantillon n° 0409-0410-0411-0412

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	8	9	1	2		1		21
Limite	9	13		2	1			25
Positif	1576	230	53	50	43	9	10	1971
total	1593	252	54	54	44	10	10	2017

Titres obtenus en fonction de la technique utilisée :

	IE	IFI	Hémaggl.	Latex
n	1593	51	52	22
m Tr	16	19	14	10
CV Tr	36	11	18	23
Fourchette 2 écart-types	4 - 27	10 - 37	5 - 35	3 - 27

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	m Tr	écart type Tr	CV Tr
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	837	809	18,9	1,8	9,5
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	496	486	8,1	1,2	14,8
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	98	95	16,1	2,1	13,0
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	68	65	22,4	2,1	9,3
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	20	19	24,9	1,7	6,8
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	18	17	34,6	4,2	12,1
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	18	18	30,7	6,0	19,5
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	12	12	7,6	1,7	22,4
Tous réactifs confondus	1593	1558	15,5	5,6	36,1

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 2383 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (93,1%), soit avec deux réactifs (6,9%).

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

Pour chacun des échantillons, les conclusions rendues par les laboratoires participants en fonction de la technique utilisée sont rassemblées dans le tableau XXI.

Tableau XX – Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE</u> :	2409 (94,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	1229
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	759
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	162
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	101
BAYER "ToxoM/ADVIA Centaur"	41
DPC France "Immulite 2000 toxoplasrose M"	32
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	27
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	20
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	7
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasrose IgM"	5
SFRI "Toxo IgM EIA"	4
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	3
DPC France "Immulite toxoplasrose M"	3
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	3
BIOMERIEUX "Toxo IgM EIA kit"	3
TOSOH BIOSCIENCE "AIA Pack toxo IgM 2V"	2
ABBOTT "Toxo M EIA Diagnostic kit"	2
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	2
BIOMERIEUX "Toxo Elisa test M"	2
TOSOH BIOSCIENCE "Toxo IgM ELISA"	1
KONE INSTR. "Toxoplasma gondii IgM EIA"	1
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE</u> :	40 (1,6%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>HEMAGGLUTINATION</u> :	34 (1,3%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>ISAGA</u> :	27 (1,1%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>LATEX</u> :	18 (0,7%)
FUMOUCHE "Toxolatem"	13
BIORAD "Pastorex Toxo"	4
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	1
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE</u> :	2 (0,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé</u> :	18 (0,7%)
Total	2548 (100%)

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

Echantillon n° 0401 - 0402

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Latex	NP	Total
Négatif	809	9	12	9	11	7	857
Limite	1						1
Total	810	9	12	9	11	7	858

Echantillon n° 0403 - 0404

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Latex	NP	Total
Négatif	804	9	12	10	7	7	849
Limite	1				1		1
Positif	2				1		3
Total	807	9	12	10	9	7	854

Echantillon n° 0405 - 0406

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Latex	NP	Total
Négatif	799	14	11	8	5	6	843
Total	799	14	11	8	5	6	843

Echantillon n° 0407 - 0408

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Latex	NP	Total
Négatif	797	14	11	7	5	6	840
Limite	1						1
Positif				1			1
Total	798	14	11	8	5	6	842

Echantillon n° 0409 - 0410 - 0411 - 0412

Technique / Conclusion	IE	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Latex	NP	Total
Négatif	1586	34	22	18	2	11	1676
Positif	3						3
Total	1589	34	22	18	2	11	1679

Commentaires

L'analyse des résultats obtenus avec l'échantillon négatif n° 0401-0402 montre que la détection des IgG anti-toxoplasme ne pose pas de problème de spécificité avec quatre (0,4%) faux positifs (tableau XV).

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 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 7,3% pour l'échantillon n° 0403-0404 de titre faible en IgG. Pour cet échantillon, on constate que la technique au latex conduit à un pourcentage particulièrement élevé (40,7%) de résultats négatifs (tableau XXII). Cependant, ce pourcentage dépend beaucoup du réactif considéré : Servibio «Servitex Toxo» (0%), Biorad «Pastorex Toxo» (25%), Fumouze «Toxolatex» (48%) et Instrumentation Laboratory «Toxocell latex» (54%).

- D'autre part, l'étude des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques qui représentent plus de 80% des réactifs utilisés par les laboratoires participants montre une dispersion importante des résultats. En effet, si le CV moyen des réactifs se rapproche de 12% quel que soit l'échantillon considéré, le coefficient de variation tous réactifs confondus varie de 31% pour le titre le plus faible (6 UI/ml) à 49% pour le titre le plus élevé (147 UI/ml) (tableau XXIII). En dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en

UI les IgG anti toxoplasme, certains réactifs attribuent systématiquement soit des titres faibles (ABBOTT « Axsym Toxo IgG » et « Imx Toxo G vers 2 »), soit des titres élevés (BAYER « Toxo G Advia Centaur ») à tous les échantillons testés. C'est ainsi que le rapport « titre le plus élevé / titre le plus faible » varie de 3,2 à 5,8 selon l'échantillon considéré. Cette observation pose le problème de l'étalonnage des réactifs sérologiques et confirme l'impossibilité 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 cinq pools de 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 5076 tests réalisés par l'ensemble des 2383 laboratoires qui effectuent la recherche des IgM anti toxoplasme, on note sept (0,1%) conclusions incorrectes « positif » et trois (0,06%) conclusions « limite », sans lien avec un réactif particulier.

Tableau XXII – % de conclusions « négatif » en fonction du titre de l'échantillon et de la technique utilisée

Echantillons n°	Titre moyen en IE (UI/ml)	% de conclusions « négatif »				
		Toutes techn. confondues	IE	Latex	Hemaggl.	IFI
0403-0404	6,4	7,3	3,0	40,7	7,4	0
0409-0410-0411-0412	15,5	1,0	0,5	3,6	3,7	1,8
0405-0406	34,8	0,1	0,1	0	0	0
0407-0408	146,9	0	0	0	0	0

Tableau XXIII – Technique immunoenzymatique : titres moyens et coefficients de variation

Echantillons n°	Titres moyens (UI/ml)			CV (%)	
	tous réactifs confondus	le plus faible	le plus élevé	tous réactifs confondus	moyen
0403-0404	6,4	4,0	12,8	31,3	12,0
0409-0410-0411-0412	15,5	7,6	34,6	36,1	13,4
0405-0406	34,8	16,5	91,5	41,6	11,4
0407-0408	146,9	57,2	331,1	48,7	13,4

Sérologie de Larva migrans viscérale

Définition des échantillons

Proposée pour la seconde fois (envoi précédent en 1999), cette analyse effectuée sur deux plasmas défibrinés lyophilisés (E9 et E49) a concerné 39 laboratoires.

Les résultats de l'expert (Dr J.C. PETITHORY – Gonesse) sont rapportés dans le tableau ci-dessous :

Techniques	Echantillon E9	Echantillon E49
ELISA Toxocarose Biopartner	positif	négatif
Immunoélectrophorèse (Ag « maison » : Ascaris suum)	positif	négatif
Ouchterlony (Ag « maison » : Toxocara canis ES)	positif	négatif
Toxocara WB IgG BIOTRIN INTERNATIONAL	positif	négatif
Hyperéosinophilie sanguine	Présence (1610 PNE/mm ³)	absence
Manifestations cliniques	absence	absence

Résultats des participants

Le bilan des techniques et réactifs employés par les laboratoires participants montre que 9 d'entre eux pratiquent une seule technique, 17 ont rendu un résultat pour deux techniques (14 de façon systématique, 3 uniquement pour l'échantillon positif) et 13 avec trois techniques (10 de façon systématique, 3 uniquement pour l'échantillon positif). Dans tous les cas, il s'agit d'une technique ELISA éventuellement complétée par une ou deux autres techniques dont un Western blot le plus souvent.

La place occupée par chaque technique dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie Larva migrans en 1999 et cinq ans plus tard en 2004 est détaillée dans le tableau XXIV. On observe, à l'exception de l'immunoélectrophorèse, une baisse sensible des méthodes d'immunoprécipitation en milieu gélatiné très contraignantes, au profit de l'ELISA et surtout du Western blot.

Des réactifs « maison » (antigènes homologues extraits de différents stades de *Toxocara canis* ou antigènes extraits d'autres nématodes comme *Ascaris suum* ou *A. lumbricoides*) sont employés pour toutes les techniques d'immunoprécipitation (Ouchterlony, électrosynérèse, immunoélectrophorèse) ainsi qu'en immunofluorescence indirecte (œufs embryonnés de *T. canis*). En revanche, 87% des laboratoires qui font un Western blot utilisent un réactif commercialisé (*Toxocara* WB IgG BIOTRIN INTERNATIONAL). De la même façon, en ELISA, quatre réactifs commercialisés sont cités par ordre de fréquence décroissant : Toxocara - sérologie BIOTRIN INT., TCC BIONOBIS, ELISA Toxocarose BIOPARTNER, Toxocarose CAP PHARMACIA et on note un seul utilisateur d'un réactif « maison ».

Les conclusions rendues par les laboratoires participants pour l'échantillon E9 en fonction de la technique employée sont rapportées dans le tableau XXV.

En ce qui concerne l'échantillon E49, le détail des réponses fournies en fonction de la technique et du réactif utilisé en ELISA et en Western blot est indiqué dans le tableau XXVI.

Tableau XXIV – Part (en %) des différentes techniques utilisées par les laboratoires en 1999 et en 2004

Techniques	1999	2004	évolution
ELISA	45,2	47,6	ü
Western blot	20,2	28,0	ü
Electrosynérèse	14,3	7,3	ú
Immunoélectrophorèse	9,5	11,0	ü
Immunofluorescence indirecte	4,8	2,4	ú
Ouchterlony	4,8	2,4	ú
Coélectrosynérèse	1,2	1,2	ü

Tableau XXV – Echantillon E9 : Conclusions des laboratoires en fonction de la technique utilisée

Techniques	Conclusions		
	Négatif	Positif	Total
ELISA		39	39
Western blot		23	23
Immunoélectrophorèse	1	6	7
Electrosynérèse	1	5	6
Immunofluorescence indirecte		2	2
Ouchterlony		2	2
Coélectrosynérèse		1	1
Total	2 (2,5%)	78 (97,5%)	80

Tableau XXVI – Echantillon E49 : Conclusions des laboratoires en fonction de la technique utilisée

Techniques	Conclusions			
	Limite	Négatif	Positif	Total
ELISA (tous réactifs confondus)	5	23	11	39
< Biotrin International	2	13	2	17
< Biopartner	2	2	4	8
< BioNobis	1	7		8
< Cap Pharmacia		1		1
< « maison »			1	1
< non précisé			4	4
Western Blot (tous réactifs confondus)		2	16	18
< Biotrin International			15	15
< « maison »		2	1	3
Immunoélectrophorèse		6		6
Electrosynérèse		5	1	6
Immunofluorescence indirecte		2		2
Ouchterlony		2		2
Coélectrosynérèse		1		1
Total	5 (6,8%)	41 (55,4%)	28 (37,8%)	74

Commentaires

La nomenclature des actes de biologie médicale impose un dépistage par au moins deux techniques parmi les suivantes : électrosynérèse, hémagglutination, ELISA, IFI, Ouchterlony et un test de confirmation utilisant une des techniques suivantes : coélectrosynérèse ou immunoélectrophorèse ou Western blot.

L'ensemble des 39 laboratoires a rendu l'échantillon E9 « positif » par au moins une technique (ELISA). De plus, 97,5% des tests effectués sur ce sérum ont conduit à un résultat positif ce qui améliore légèrement le score obtenu pour ce même échantillon en 1999 (95,2% « positif », 1,2% « limite » et 3,6% « négatif »).

En ce qui concerne l'échantillon E49, les conclusions rendues sont discordantes et varient selon la technique utilisée. Les tests réalisés en IFI ou par une technique d'immunoprécipitation donnent un résultat négatif ce qui n'est pas le cas pour l' ELISA ou le Western blot :

- en ELISA, on note tous réactifs confondus, respectivement 59%, 13% et 28% de conclusions « négatif », « limite » et « positif ». Ceci, bien que les trois réactifs commercialisés comportent le même type d'antigène (*T. canis* larvaire excrété/sécrété) et proposent, pour deux d'entre eux (Biotrin Int. et Biopartner), un seuil identique de positivité à 0,3 UDO établi à partir d'une population témoin (donneurs de sang) sans signes cliniques ni hyperéosinophilie sanguine.

- en Western blot, on note 100% de résultats positifs avec le seul réactif commercialisé, utilisé par 15 laboratoires et des réponses moins tranchées avec les 3 Western blot « maison » (2 « négatif » et 1 « positif »).

Que conclure sur cet échantillon ?

En pratique, la découverte d'une toxocarose est le plus souvent le résultat de l'exploration d'une hyperéosinophilie associée ou non à des symptômes cliniques. Ici, l'absence d'hyperéosinophilie et de signes cliniques évocateurs rend l'interprétation de la sérologie toxocarose, quant à la signification pathologique des tests positifs, difficile. La détection d'anticorps par les techniques les plus sensibles oriente vers une infestation ancienne (longue persistance d'une séropositivité chez les individus guéris) plutôt que vers une réaction croisée du fait de l'existence de communautés antigéniques avec d'autres helminthes.

Bibliographie

- 1- Magnaval J.F., Glickman L.T., Dorchies P. La toxocarose, une zoonose helminthique majeure. Rev.Med.Vet. 1994 ; 145 : 611 – 627.
- 2- Piarroux R., Humbert P., Janin V., Degouy A., Clair S., Aubin F. Is toxocarosis an etiology of unexplained chronic prurigo, pruritus and urticaria? EMOP 2000, S3-02.
- 3- Petithory J.C., Beddock A., Quedoc M. Zoonose d'origine ascaridienne : le syndrome de Larva migrans viscéral. Bull. Ac. Nat. Med. 1994 ; 178, 635 - 647.