

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Parasitologie

12PAR1

novembre 2012

Frottis sanguin
Sérologie de la toxoplasmose

Août 2013

Muriel FROMAGE (Ansm)
Guy GALEAZZI (Nanterre)
Michel MIEGEVILLE (Nantes)

Expédition : 21 novembre 2012

Clôture : 17 décembre 2012

Edition des compte-rendus individuels : 04 février 2013

Paramètres contrôlés :

Frottis sanguin : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*

Sérologie de la toxoplasmose

Nombre de laboratoires concernés* : 1815

Nombre de laboratoires participants** : 1700

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm 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, on continue d'observer une diminution importante du nombre de laboratoires concernés par le contrôle national de qualité en parasitologie (moins 956 par rapport à 2011 et moins 1936 par rapport à 2010). Ceci est principalement dû au fait que, depuis janvier 2011, les laboratoires multi-sites enregistrés dans le fichier du CNQ sont considérés comme un seul laboratoire quel que soit le nombre de sites de ce laboratoire qui réalisent les analyses contrôlées. En revanche, on note sur les bordereaux de réponse, un pourcentage plus faible de réponses « examen transmis » (6% versus 13% en 2011) ce qui laisse supposer une future stabilisation des regroupements de laboratoires.

Trois frottis sanguins correspondant à trois espèces différentes de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. ovale* et *P. malariae*) ont été adressés aux laboratoires.

Les espèces *P. falciparum* et *P. malariae* ont été correctement identifiées par respectivement 83 et 80% des participants ayant rendu un diagnostic. Les résultats sont un peu moins bons pour *P. ovale* confondu dans 17% des cas avec *P. vivax*.

Les frottis présentaient des formes parasitaires typiques et notamment les granulations caractéristiques dans les hématies parasitées : taches de Maurer sur les lames de *P. falciparum*, granulations de Schüffner sur les lames de *P. ovale*. Elles sont mises en évidence uniquement si la coloration de May-Grünwald-Giemsa est réalisée en eau tamponnée à pH 7.2 - 7.4. En pratique, les colorants peuvent être dilués dans de l'eau minérale présentant ces caractéristiques, en particulier l'eau d'Evian®. La mise en place de colorateurs automatiques dans les laboratoires utilisant des colorants dédiés (pH 7) ne permet plus d'observer ces granulations, utiles sinon indispensables au diagnostic microscopique différentiel d'espèces.

Sur le plan clinique, les renseignements qui accompagnaient les frottis étaient identiques pour les trois espèces : « frottis sanguin (coloration M.G.G.) d'un garçon de 11 ans, hospitalisé pour un épisode de gastroentérite fébrile, de retour depuis 10 semaines d'un séjour dans son pays natal, le Bénin. »

Il s'agit d'un accès de reviviscence schizogonique, apparu à distance du retour d'un séjour en pays d'endémie, explicable par :

- l'éclatement des hypnozoïtes intra-hépatiques restés quiescents pour *P. ovale*
- l'exacerbation d'une schizogonie sanguine latente pour *P. malariae*

Pour *P. falciparum*, généralement ces accès de reviviscence suivent immédiatement l'accès initial. Pour les autres espèces, ils peuvent apparaître plusieurs mois après la primo-infection, notamment à l'occasion d'une autre infection intercurrente.

Cet accès fébrile est associé à des symptômes digestifs, relativement fréquents chez l'enfant, pouvant être trompeurs.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, cette opération de contrôle a été l'occasion de proposer pour la deuxième fois un échantillon contenant des IgG et des IgM anti-toxoplasme (séroconversion).

Le cas clinique était le suivant : « patiente à deux mois de grossesse pour la détermination de son statut sérologique en l'absence d'antécédents (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial). »

L'interprétation de ce profil sérologique chez la femme enceinte est délicate car la présence d'IgM n'est pas nécessairement en rapport avec une infection récente. C'est pourquoi, la réponse attendue (rendue par 37% des laboratoires) était : « Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose assez récente. » + « Réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur ce prélèvement. » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines. » ou bien « A confirmer par une nouvelle sérologie ».

Au total, 92,7% des laboratoires ont au moins indiqué la possibilité d'une infection récente et la nécessité de réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur le prélèvement qui étaient les deux éléments principaux de la conclusion.

Frottis sanguin

1 - Echantillon LOBBE ou BRICKA

Définition de l'échantillon

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

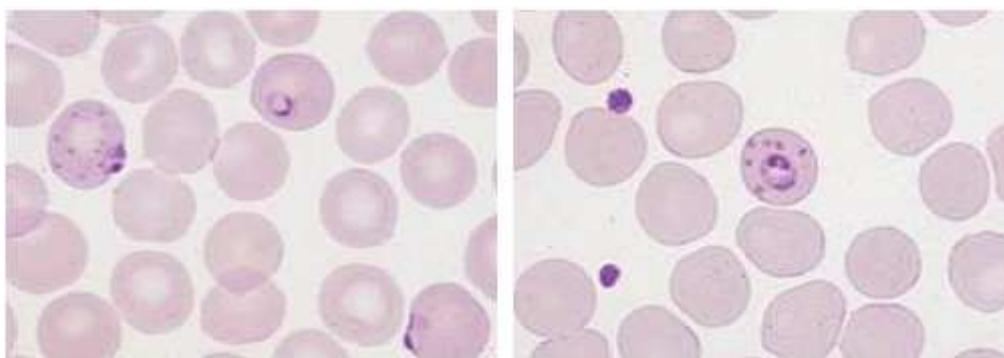
Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOUIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 0,2% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : frottis sanguin (coloration M.G.G.) d'un garçon de 11 ans, hospitalisé pour un épisode de gastroentérite fébrile, de retour depuis 10 semaines d'un séjour dans son pays natal, le Bénin.



Photos 1 et 2 : trophozoïtes *P. falciparum*

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 536 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. falciparum* d'une richesse comparable ($\leq 1\%$) et comportant uniquement le stade « trophozoïte » sont rapportés dans le tableau II

tableau I - Ensemble des réponses des 536 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	96,1	77,2 (soit 83,3% des 497 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Schizontes jeunes		4,3	
Schizontes âgés		4,6	
Gamétocytes		0,5	
divers/non précisés		0,5	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		8,2
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		4,8
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		2,2
divers/non précisés	<i>Leishmania</i>		0,4
ABSENCE DE PARASITE			0,2
EXAMEN TRANSMIS			7,3

tableau II - Bilan des six opérations de contrôle « trophozoïtes *P. falciparum* » (\leq 1% hématies parasitées)

Année	Nombre de participants	% d'hématies parasitées	% de réponses « <i>P. falciparum</i> »	% Plasmodium autres espèces	% de réponses « absence de parasite »	% « transmis » ou absence de réponse
2012	536	0,2	77,2	15,2	0,2	7,3
2010	1144	0,6	85,4	7,6	< 0,1	9,6
2005	1252	0,3	67,4	31,5	0	2,3
2002	1326	1	70,7	27,7	0	2,7
2000	1301	0,1	80,9	15,2	2,2	1,4
1999	1316	0,5	57,5	41,9	0,2	1,8

Commentaires

L'observation de ce frottis sanguin signe un accès simple à *P. falciparum* sur les éléments suivants :

- hématies parasitées de taille, forme et de couleur normales.
- trophozoïtes âgés avec de belles tâches de Maurer : grossières, peu nombreuses. Elles sont à distinguer des granulations de Schüffner de *P. ovale* et *P. vivax* (respectivement confondu par 8% et 4% des participants).
- absence de signe de gravité : parasitémie faible < 4%, aspect monotone de la lame avec présence de trophozoïtes annulaires sans schizontes associés dans le sang périphérique.

Dans la pratique quotidienne du diagnostic biologique du paludisme, associant aux frottis-goutte épaisse, la détection de l'antigénémie palustre par une technique rapide immuno-chromatographique : le diagnostic de *P. falciparum* est aisément confirmé par la présence de l'antigène HPR2 spécifique de l'espèce.

2 - Echantillon ALBOU ou BEKKAL

Définition de l'échantillon

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

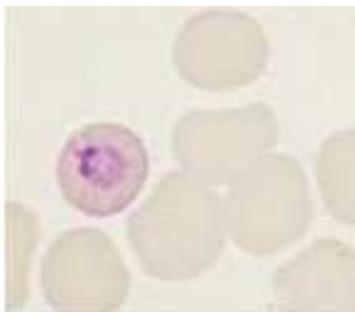
Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOUIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium ovale*

Stade : Trophozoïtes et très rares gamétocytes

Richesse du frottis : 0,7% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : frottis sanguin (coloration M.G.G.) d'un garçon de 11 ans, hospitalisé pour un épisode de gastroentérite fébrile, de retour depuis 10 semaines d'un séjour dans son pays natal, le Bénin.



Photos 3 et 4 : trophozoïtes *P. ovale*

Photo 5 : gamétocytes *P. ovale*

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 531 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau III.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des six envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. ovale* comportant le stade trophozoïte seul ou accompagné de gamétocytes sont rapportés dans le tableau IV.

tableau III - Ensemble des réponses des 531 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	94,0	72,5 soit 76,7% des 502 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		29,9	
Schizontes âgés		22,3	
Gamétocytes		36,1	
divers/non précisés		0,5	
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		17,3
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		5,3
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,4
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,4
Parasites divers			0,2
ABSENCE DE PARASITE			0
EXAMEN TRANSMIS			5,5

tableau IV - Bilan des sept opérations de contrôle *P. ovale* : trophozoïtes (T) ou trophozoïtes + gamétocytes (T+G)

Année	Nombre de participants	% d'hématies parasitées	stades	% de réponses « <i>P. ovale</i> »	% de réponses « <i>P. vivax</i> »	% de réponses « <i>P. falciparum</i> »	% « transmis » ou absence de réponse
2012	531	0,7	T + G	72,5	17,3	5,3	5,5
2011	830	0,1	T	74,6	12,3	1,6	11,0
2010	1126	0,14	T+G	74,2	7,2	5,8	10,4
2005	929	0,2	T	82,2	7,8	5,5	3,0
2005	1260	0,5	T+G	77,0	19,4	1,2	2,5
2002	1328	0,4	T+G	81,8	12,3	3,7	1,9
1996	1272	0,3	T+G	72,6	21,6	2,0	1,7

Commentaires

Sur ce frottis, le diagnostic de *P. ovale* est porté à partir des éléments suivants :

- hématies parasitées de taille un peu supérieure à la normale (voir subnormale), ovalisée avec une extrémité frangée (aspect en comète) ou pointue ou présence de spicules à la périphérie du globule rouge.
- présence de granulations de Schüffner (rouge vif, punctiformes, nombreuses) dans les hématies parasitées.
- trophozoïtes jeunes à la forme annulaire assez grande, trophozoïtes âgés à la forme oblongue, déformée mais non amiboïde.
- gamétocytes ronds ou ovalaires.

On observe quelques hématies polyparasitées.

Sur le frottis adressé, quelques globules rouges hypertrophiés et corps amiboïdes pouvaient orienter vers *P. vivax* (17 % des participants). Toutefois, la schüffnérisation précoce dès le stade de trophozoïte jeune, malgré la rareté d'hématies ovales frangées caractéristiques, permet de poser le diagnostic de *P. ovale*.

Le pays de naissance (Bénin) du patient permet également d'évoquer *P. ovale*, plutôt que *P. vivax*. Les déterminants antigéniques érythrocytaires du groupe Duffy (Fya et Fyb) sont indispensables à la pénétration de *P. vivax*. C'est pourquoi en Afrique subsaharienne, où la population noire est presque exclusivement porteuse du phénotype (Fya-, Fyb-) *P. vivax* est absent.

3 - Echantillon MELKI ou AFIT

Définition de l'échantillon

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

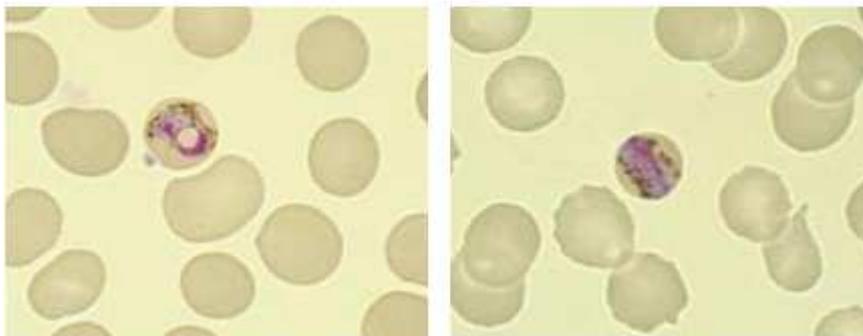
Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOUIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium malariae*

Stade : Trophozoïtes, schizontes jeunes et gamétocytes

Richesse du frottis : 0,5% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : frottis sanguin (coloration M.G.G.) d'un garçon de 11 ans, hospitalisé pour un épisode de gastroentérite fébrile, de retour depuis 10 semaines d'un séjour dans son pays natal, le Bénin.



Photos 6 et 7 : trophozoïtes *P. malariae*

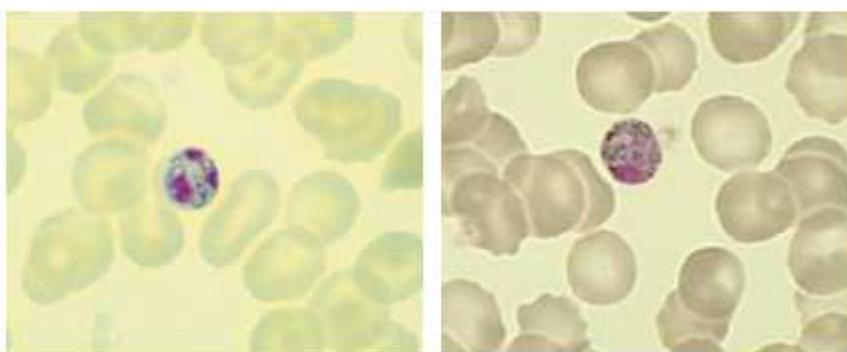


Photo 8 : schizonte *P. malariae*

Photo 9 : gamétocyte *P. malariae*

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 551 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau V.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des six envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. malariae* sont rapportés dans le tableau VI.

tableau V - Ensemble des réponses des 551 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. malariae</i>	85,1	75,5 soit 80,3% des 518 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		28,8	
Schizontes âgés		20,4	
Gamétocytes		14,2	
divers/non précisés		0,7	
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		13,2
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		3,3
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		2,7
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,2
ABSENCE DE PARASITE			0
EXAMEN TRANSMIS			6,0

tableau VI - Bilan des sept opérations de contrôle « *Plasmodium malariae* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de bonnes réponses « <i>P. malariae</i> »	Plasmodium autres espèces (%)	Deuxième réponse (%)	% « transmis » ou absence de réponse
2012	551	0,5	75,5	19,4	<i>P. falciparum</i> (13,2)	6,0
2007	3738	≤ 0,1	78,7	18,0	<i>P. ovale</i> (8,2)	3,2
2004	1246	0,1	80,1	11,9	<i>P. falciparum</i> (5,6)	2,4
2000	1305	0,1	55,4	42,5	<i>P. vivax</i> (27,2)	1,8
1994	1189	0,1	76,4	19,4	<i>P. vivax</i> (12,0)	1,0
1992	1239	0,1	65,6	20,9	<i>P. vivax</i> (13,1)	3,5
1984	952	0,2 - 1	81,9	15,0	<i>P. vivax</i> (8,6)	1,9

Commentaires

Sur ce frottis, le diagnostic de *P. malariae* est posé à partir des éléments suivants:

- les hématies parasitées de petite taille, sans granulations (les pointillés de Ziemann caractéristiques de l'espèce ne sont pas visibles à la coloration M.G.G.).
- la présence de pigment malarique brun-noir, abondant à tous les stades.
- l'observation de quelques bandes équatoriales en travers du globule rouge, résultant de l'étirement des trophozoïtes et des schizontes jeunes.

Les gamétocytes sont petits et sphériques.

Habituellement très faible dans les accès à *P. malariae*, la parasitémie est relativement plus élevée sur les frottis adressés.

Bibliographie

Cahier de Formation Biologie Médicale n°23 : Parasites sanguins, J.C. Petithory, F. Ardoin-Guidon, Bioforma, décembre 2001

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons différents ont été adressés à chacun des 1293 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Les échantillons lyophilisés préparés à partir de trois pools de plasmas défibrinés sont définis de la façon suivante :

N°échantillon	IgG anti-toxoplasme	IgM anti-toxoplasme
1201 ou 1202 ou 1209 ou 1210	absence	absence
1203 ou 1204 ou 1207 ou 1208	présence (taux fort)	présence
1205 ou 1206 ou 1211 ou 1212	présence (taux fort)	absence

C'est la deuxième fois qu'un échantillon contenant des IgM anti-toxoplasme (séroconversion) est proposé dans le cadre du CNQ (opération précédente 99PAR1).

Cet échantillon a été préparé à partir de deux poches de plasma défibriné contenant des IgM de séroconversion à taux élevé sur les automates Axsym ABBOTT, Platelia BIORAD, Vidas BIOMERIEUX et un indice ISAGA IgM égal à 12. L'une des deux poches ne comportait ni IgG, ni IgA anti-toxoplasme. L'autre comportait des IgG et des IgA à taux élevés avec une affinité faible des IgG confirmant une toxoplasmose récente.

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 concernant le titrage des IgG par les réactifs immunoenzymatiques figurent, pour chaque groupe supérieur ou égal 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 tronqué (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, 1162 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (79,8%), soit avec deux réactifs (20,2%).

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

Les conclusions (« négatif », « limite » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 1201-1202 et 1209-1210 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau VIII.

Pour chacun des deux autres échantillons qui contenaient des IgG anti-toxoplasme, les résultats des titrages IgG ainsi que les conclusions données par les laboratoires en fonction de la technique utilisée sont rassemblés dans les tableaux IX et X.

tableau VII - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :	1263 (90,3%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	304
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	242
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	205
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	98
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	85
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	85
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA"	64

SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasrose G"	51
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	47
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	26
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	20
DIASORIN "Liaison Toxo IgG "	19
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	9
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasrose IgG"	6
SIEMENS "Immulite toxoplasrose G"	2
<u>LATEX</u> :	99 (7,1%)
FUMOUCHE "Toxolates"	72
BIORAD "Pastorex Toxo"	22
SERVIBIO "Servitex Toxo"	2
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	3
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	11 (0,8%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	15 (1,1%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	2 (0,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	8 (0,6%)
Total	1398 (100%)

tableau VIII - Echantillons négatifs : 1201-1202 et 1209-1210

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	826	70	8	6	2	3	915
Positif	2						2
Total	828	70	8	6	2	3	917

tableau IX - Echantillons 1203-1204 et 1207-1208

Conclusions en fonction de la technique utilisée

Technique / conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	NP	Total
Positif	829	60	10	9	4	912
Négatif	-	-	-	-	-	-
Total	829	60	10	9	4	912

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	153	150	436,5	130,3	29,8
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	153	146	140,6	7,0	5,0
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	119	112	1685,0	159,6	9,5
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	33	33	314,5	76,3	24,3
BECKMAN"DXI Toxo IgG"	41	39	485,4	124,7	25,7
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	69		> 700		
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	51	45	433,6	86,4	19,9
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	35	31	1763,2	77,4	4,4
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	14	13	818,2	154,4	18,9
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	17	16	506,9	56,2	11,1
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	11	11	435,2	132,6	30,5
Tous réactifs confondus	En raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.				

tableau X - Echantillons 1205-1206 et 1211-1212

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	NP	Total
Positif	852	63	9	5	3	5	937
Négatif	1			1			2
Total	853	63	9	6	3	5	939

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	199	187	138,4	18,2	13,2
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	164	161	65,1	3,6	5,6
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	119	109	1941,3	119,7	6,2
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	35	34	66,5	10,3	15,6
BECKMAN"DXI Toxo IgG"	53	51	27,4	22,6	10,9
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	68	65	456,1	19,2	4,2
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	59	56	209,7	19,9	9,5
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	34	31	1930,8	155,6	8,1
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	35	34	213,7	25,7	12,0
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	18	16	160,6	12,3	7,7
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	12	11	118,9	20,2	17,0
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	12	12	181,1	49,7	27,4
Tous réactifs confondus	En raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.				

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 1159 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (89,1%), soit avec deux réactifs (10,9%).

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

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

tableau XI - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</u>	1254 (97,6%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	306
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	242
ROCHE "Elecsys/modular Toxo M"	204
SIEMENS "ToxoM/ADVIA Centaur"	98
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	85
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	85
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA"	65
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose M"	50
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	49
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	25
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	22
DIASORIN "Liaison Toxo IgM "	17
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmose IgM"	3
SIEMENS "Immulite toxoplasmose M"	1
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	1
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgM"	1
<u>LATEX :</u>	5 (0,4%)
FUMOUGE "Toxolax"	4
BIORAD "Pastorex Toxo"	1
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.):</u>	6 (0,5%)
FUMOUGE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</u>	10 (0,8%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>ISAGA :</u>	8 (0,6%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	2 (0,2%)
Total	1285 (100%)

tableau XII - Détection des IgM anti-toxoplasme : conclusions en fonction de la technique utilisée

Echantillons négatifs : 1201-1202 et 1209-1210

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	814	5	3	5	9	2	838
Positif							
Total	814	5	3	5	9	2	838

Echantillons positifs : 1203-1204 et 1207-1208

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Total
Positif	828	4	7	4	4	847
Limite				2		2
Négatif	2	1		1		4
Total	830	5	7	7	4	853

Echantillons négatifs : 1205-1206 et 1211-1212

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	832	2	1	5	1	3	844
Positif	3			1	1		5
Total	835	2	1	6	2	3	849

3 - Cas clinique

Le cas clinique était le suivant : « prélèvements de 2 patientes à deux mois de grossesse pour la détermination de leur statut sérologique en l'absence d'antécédents (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial). Chaque flacon correspond à une patiente différente. Il vous est demandé de réaliser le titrage des IgG (résultat exprimé en UI/ml) et/ou la recherche des IgM, puis à partir des deux résultats (IgG et IgM) obtenus, d'interpréter le profil sérologique et, le cas échéant, d'indiquer les modalités du suivi sérologique et/ou les examens complémentaires à effectuer sur ce premier prélèvement. »

En effet, comme le précise la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale, le titrage des IgG et la recherche des IgM anti-toxoplasme doivent être suivis d'une conclusion apportée au médecin prescripteur. Les conclusions proposées au choix du biologiste qui pouvait en sélectionner de une à quatre sont rapportées dans le tableau XIII.

Les conclusions choisies par les biologistes pour les échantillons « IgG positif et IgM négatif » sont détaillées dans le tableau XIV et comparées à celles obtenues pour un échantillon de titre proche lors de l'opération précédente 11PAR1.

tableau XIII - Conclusions au choix

Interprétation des résultats du titrage des IgG et de la recherche des IgM	
TOX A	Absence d'anticorps. Absence d'immunité.
TOX B	Taux limite. A considérer comme non immunisée.
TOX C	Immunité ancienne probable.
TOX D	Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose assez récente.
TOX E	Discordance entre deux techniques.

Examens complémentaires et/ou modalités de suivi sérologique	
TOX F	Sérologie à renouveler tous les mois jusqu'à l'accouchement et 1 mois après.
TOX G	Sérologie à contrôler dans 1 à 2 semaines.
TOX H	Sérologie à contrôler dans 3 semaines.
TOX I	A confirmer par une nouvelle sérologie.
TOX K	Suivre les mesures hygiéno-diététiques de prophylaxie.
TOX M	Réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur ce prélèvement.
TOX P	Réaliser une seconde technique de détection des IgM de principe différent sur ce prélèvement.
TOX S	Réaliser une seconde technique de détection des IgG de principe différent sur ce prélèvement.
TOX T	Réaliser un Western blot.

tableau XIV - Echantillon « IgG positif et IgM négatif » : conclusions des biologistes

Opération	12PAR1	11PAR1
Echantillon	1205-1206 1211-1212	1107-1108 1111-1112
Effectif	781	893
Conclusion :		
« TOX C + TOX H » ou « TOX C + TOX I »	87,5 %	70,4 %
TOX C « immunité ancienne probable »	7,0 %	18,5 %
Autres conclusions	5,5 %	11,0 %

tableau XV - Echantillon « IgG positif et IgM positif » : conclusions des biologistes (effectif > 10)

Opération	12PAR1
Echantillon	1203-1204 -1207-1208
Effectif	758
Conclusion :	
TOX D + TOX M + TOX H	236 (31,1%)
TOX D + TOX M + TOX G	161 (21,2%)
TOX D + TOX M + TOX P	108 (14,2%)
TOX D + TOX M	107 (14,1%)
TOX D + TOX M + TOX I	45 (5,9%)
TOX D + TOX M + TOX H + TOX P	14 (1,8%)
TOX D + TOX M +/- autre(s)	33 (4,4%)
TOX D +/- autre(s) que TOX M	43 (5,7%)
Autres conclusions	11 (1,5%)

Commentaires

Les recommandations concernant l'interprétation des différents profils sérologiques, citées dans les commentaires ci-dessous sont extraites de la publication du CNR de la toxoplasmose parue dans les Feuilles de Biologie, janvier 2011 (1).

1 - IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, on note deux conclusions (0,2%) faussement positives avec l'échantillon négatif 1201-1202-1209-1210 (tableau VIII). Pour l'une d'elles, il s'agit probablement d'une inversion des résultats obtenus sur les deux échantillons testés (un « IgG négatif » et un « IgG positif ») lors de leur retranscription sur le bordereau-réponse.

Pour les deux échantillons positifs en IgG, on observe aucun faux négatif avec l'échantillon 1203-1204-1207-1208 (tableau IX) et uniquement deux faux négatifs avec l'échantillon 1205-1206-1211-1212 (tableau X). L'un d'eux est dû à une inversion d'échantillon (cf paragraphe précédent).

D'autre part, l'étude des titres obtenus pour les deux échantillons « IgG positifs » montre une dispersion importante des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques. Comme pour les opérations de contrôle précédentes, on note que les titres les plus faibles sont rendus par les automates Architect ou AxSYM de la société ABBOTT tandis que les titres les plus élevés sont rendus par les automates Cobas Core ou Elecsys/Modular de chez ROCHE. Les titres en IgG sont exprimés en UI/ml, ce qui suggère une standardisation des valeurs observées alors que ce n'est pas le cas. Cette donnée doit être prise en compte lorsque l'on veut comparer les titres en IgG de sérums successifs. L'interprétation de la cinétique des anticorps ne sera possible que si les titrages sont réalisés avec le même réactif (1) (2).

2 - IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, deux des trois pools de plasmas utilisés pour la préparation des échantillons de cette opération de contrôle ne contenaient pas d'IgM anti-*Toxoplasma gondii*. On observe aucun faux positif avec l'échantillon 1201-1202-1209-1210 qui était aussi négatif en IgG. En revanche, quatre laboratoires ont conclu « recherche d'IgM positive » pour l'échantillon 1205-1206-1211-1212 avec un réactif pour trois d'entre eux et deux réactifs pour un laboratoire (inversion probable des résultats des deux échantillons testés).

Pour la deuxième fois dans le cadre du contrôle national de qualité, un échantillon positif en IgM anti-toxoplasme a été envoyé (échantillon 1203-1204 -1207-1208). Il s'agit d'IgM de séroconversion. On note quatre (0,5%) conclusions incorrectes « négatif » dont une probablement due à une inversion d'échantillons.

3 - Interprétation du profil sérologique, suivi sérologique et/ou examen complémentaire à réaliser sur l'échantillon en fonction du cas clinique

Le pourcentage de laboratoires ayant apporté une conclusion globale à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM anti-toxoplasme et du cas clinique « prélèvement d'une patiente à deux mois de grossesse pour la détermination de leur statut sérologique en l'absence d'antériorité (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial) » est de 99,4%.

Sur les 766 laboratoires concernés par l'échantillon « IgG et IgM négatifs », on note que 99,3% ont mentionné l'absence d'immunité. Les conclusions des participants se répartissent de la façon suivante :

- 59,4% ont rendu la conclusion attendue : TOX A + TOX F + TOX K, c'est-à-dire « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois jusqu'à l'accouchement et un mois après » + « suivre les mesures hygiéno-diététiques de prophylaxie ».
- 35,4% ont rendu une conclusion très proche, également considérée comme exacte : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois jusqu'à l'accouchement et un mois après » (TOX A + TOX F).
- 2,3% ont rendu une conclusion acceptable : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX A + TOX H).
- 2,1% ont rendu une interprétation correcte mais incomplète (TOX A seule ou TOX F seule),

Pour l'échantillon « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue était : « Immunité ancienne probable » + « sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX C + TOX H) ou bien « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX C + TOX I). En effet, en absence d'antériorité lors de la grossesse, il convient de contrôler la sérologie sur un second sérum prélevé à 3 semaines d'intervalle (1). On ne conclura à une infection ancienne que si le titre des IgG est stable entre les deux sérums.

La conclusion attendue a été rendue par 87,5% des 781 laboratoires (+ 17% par rapport à 2011) (tableau XIV). De plus, le statut d'immunité ancienne (TOX C), hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif », est signalé par 95,4% des laboratoires.

En ce qui concerne l'échantillon « IgG et IgM positifs », l'interprétation de ce profil sérologique chez la femme enceinte est délicate car la présence d'IgM n'est pas nécessairement en rapport avec une infection récente. En effet, des IgM peuvent être retrouvées plus d'un an après une primo-infection (IgM résiduelles) même à des taux élevés. Par conséquent, il n'est pas licite d'affirmer définitivement une toxoplasmose évolutive sur la seule présence d'IgM dans un sérum. Il faut bien sûr évoquer la possibilité d'une infection récente mais il est nécessaire de dater l'infection par rapport au début de grossesse. Pour cela, en l'absence d'antériorité, il est recommandé de réaliser une mesure de l'avidité des IgG si le titre en IgG est suffisant. Soit l'avidité des IgG est élevée ; dans ce cas, on peut exclure une infection récente et un contrôle de confirmation sur un nouveau prélèvement 3 semaines plus tard est recommandé. Soit l'avidité des IgG est basse ou intermédiaire ; dans ce cas, on ne peut pas exclure une infection récente. Un deuxième prélèvement 3 semaines plus tard permettra de conclure : si le titre des IgG est stable, il s'agit d'une infection survenue plus de 2 à 3 mois avant la date du premier prélèvement ; si le titre des IgG augmente de façon significative, alors l'infection date de moins de 2 à 3 mois.

En conclusion, pour cet échantillon « IgG et IgM positifs », la réponse attendue était : « Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose assez récente. » + « Réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur ce prélèvement. » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines. » / « A confirmer par une nouvelle sérologie ». Ce qui correspond aux codes TOX D + TOX M + TOX H / TOX I. Cette combinaison de codes a été rendue par 37% des laboratoires.

Un pourcentage non négligeable (21,2%) de participants a donné comme intervalle entre ce premier prélèvement et le prélèvement de contrôle : 1 à 2 semaines. Néanmoins, trois semaines sont recommandées.

On note également que 16% des laboratoires effectueraient sur le prélèvement une seconde technique de détection des IgM de principe différent. Ce n'est pas nécessaire ici. La confirmation de la présence des IgM par une deuxième technique est surtout recommandée dans le cas où les IgG sont négatives.

Enfin, on notera que, au total, 92,7% des laboratoires ont au moins indiqué la possibilité d'une infection récente (TOX D) et la nécessité de réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur le prélèvement (TOX M) qui étaient les deux éléments principaux de la conclusion.

Bibliographie

(1) O. VILLARD et coll., Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. Feuillet de Biologie, 2011, 298 : 43 - 49.

(2) Point sur la sérologie de la toxoplasmose en France

http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/1077fb141f908c52fcf9c6021a1b261a.pdf