

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin
Coprologie parasitaire
Mycologie
Sérologie de la toxoplasmose

Muriel FROMAGE (Afssaps)
Sandrine HOUZE (Paris)
Michel MIEGEVILLE (Nantes)
Marc THELLIER (Paris)

Expédition : 07 octobre 2009

Clôture : 02 novembre 2009

Edition des compte-rendus individuels : 12 février 2010

Paramètres contrôlés :

Frottis sanguin : *Plasmodium falciparum*, sang non parasité

Coprologie : *Taenia sp.*, *Giardia intestinalis*, *Trichuris trichiura* + *Entamoeba coli*

Mycologie : *Microsporium audouinii*, *Absidia sp.*, *Geotrichum candidum*

Sérologie de la toxoplasmose

Nombre de laboratoires concernés* : 3938

Nombre de laboratoires participants** : 3813

* 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, deux frottis sanguins de paludisme à *Plasmodium falciparum* au stade trophozoïte ont été adressés aux laboratoires. Le premier, avec environ 1% d'hématies parasitées a conduit à 84% de diagnostics d'espèce corrects. Le second, très faiblement parasité (parasitémie : 0,05%), a conduit à un pourcentage non négligeable (10%) de réponses « absence de parasite ». Un troisième frottis non parasité a également été proposé. Dans ce cas, plus des trois quarts des laboratoires ont rendu la réponse attendue « absence de parasite » tandis que 12% ont cru voir un *Plasmodium*.

La coprologie parasitaire comportait une identification d'œufs de *Taenia*. Le diagnostic d'œufs de *Taenia* a été fait par 83,2% des laboratoires participants. La différence entre les dénominations « embryophore » et « œuf » n'a pas de conséquence pratique. En revanche, le diagnostic d'espèce (*T. saginata* ou *T. solium*) est essentiel ; mais il faut pour cela étudier le scolex ou un anneau, ce qui n'était pas le cas ici.

La selle contenant des kystes de *Giardia intestinalis* n'a pas posé de problème. Ce protozoaire de diagnostic aisé a été reconnu par 87,6% des participants.

Cet envoi comportait également une selle biparasitée par des œufs de trichocéphale caractéristiques qui ont été vus par plus de 8 laboratoires sur 10 et de rares kystes d'*Entamoeba coli*.

En ce qui concerne la mycologie, près de 80% des laboratoires participants ont reconnu la souche de *Microsporium audouinii*, ce qui correspond au score le plus élevé obtenu pour ce dermatophyte (+ 32% par rapport à l'envoi précédent en 1997). Une souche d'*Absidia corymbifera* était également proposée pour la deuxième fois. Si l'on totalise l'ensemble des réponses faisant référence à la classe des Mucorales (*Absidia sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.* et mucoracée), on obtient un pourcentage de réponses acceptables égal à 79%, identique à celui obtenu lors du premier envoi en 1998. Quant à la levure, *Geotrichum candidum*, 8 laboratoires participants sur 10 ont rendu un diagnostic de genre correct.

Enfin, chacun des 2197 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme a reçu deux échantillons à tester pour la sérologie de la toxoplasmose. En ce qui concerne les échantillons « IgG positifs », on note un unique résultat faussement négatif et comme toujours, une dispersion importante des titres (UI/ml) avec les réactifs immunoenzymatiques. Ainsi, le rapport entre le titre le plus élevé et le titre le plus faible obtenus pour un même échantillon varie de 36 à 45 selon l'échantillon considéré.

Frottis sanguin

1 - Echantillons CARRIN ou MANCEL

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG rapide (Diff Quick[®])

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 1,3% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient fébrile depuis 48 heures, au retour depuis 7 jours d'un séjour de deux semaines en Côte d'Ivoire. Pas de prophylaxie.

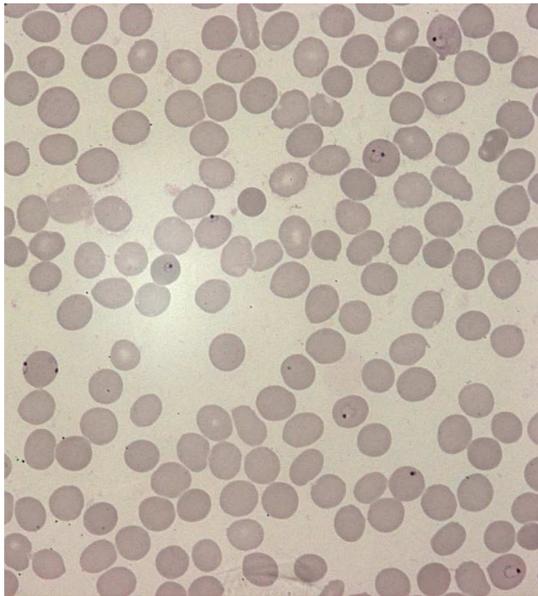


photo 1. *Plasmodium falciparum* (x1000)
(S. Houze).

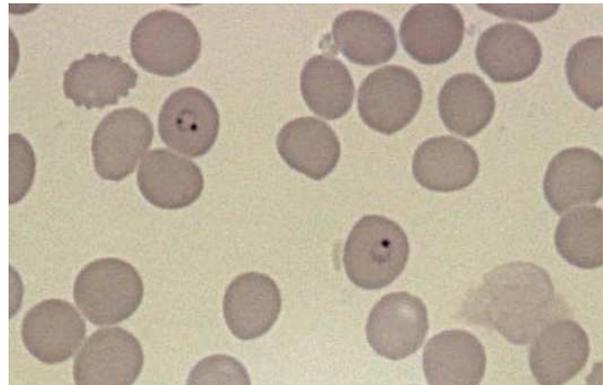


photo 2. *Plasmodium falciparum*
deux trophozoïtes (S. Houze).

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1189 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 de l'envoi précédent en 2002 d'un frottis sanguin parasité par *P.falciparum* d'une richesse comparable et comportant uniquement le stade « trophozoïte » sont rapportés dans le tableau II.

tableau I - Ensemble des réponses des 1189 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	95,0	83,9 soit 89,0% des 1119 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		5,7	
Schizontes âgés		1,7	
Gamétocytes		1,4	
divers/non précisés		0,5	
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,8
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		0,4

divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		0,2
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			5,9
Parasites divers			<0,1
« Frottis mal coloré. Illisible »			2,8
PAS DE REPONSE			0,3
EXAMEN TRANSMIS			5,6

tableau II - Bilan des deux dernières opérations de contrôle « trophozoïtes *P. falciparum* » (parasitémie : 1%)

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
2009	1189	1,3	83,9	1,7	5,9	8,7
2002	1326	1	70,7	27,7	0	2,7

Commentaires

Sur les frottis CARRIN ou MANCEL, les parasites intra-érythrocytaires sont caractéristiques de *Plasmodium falciparum* : ce sont des formes jeunes avec un aspect typique de bague à chaton, de petite taille, un anneau cytoplasmique fin, un noyau violet qui peut apparaître fractionné. Ces trophozoïtes ont tendance à se placer à la périphérie de l'hématie et dans certains cas, le noyau tend à faire hernie à l'extérieur (photo 1).

Le parasite occupe 1/3 à 1/5 de l'hématie. Les hématies parasitées sont de taille normale (photo 2).

La parasitémie relativement importante facilite le diagnostic d'espèce : on observe de 1 à 4 hématies parasitées par champ selon le nombre d'hématies observées.

Si l'on compare les résultats obtenus avec ceux de 2002 (tableau II), on note une amélioration nette concernant le diagnostic d'espèce. En revanche, le nombre élevé de participants n'ayant pas vu de parasite (70 laboratoires) est préoccupant. Toutefois, des réclamations portant sur la qualité de la coloration de certaines lames nous permettent de relativiser ce résultat.

2 - Echantillons FLEURY ou GUIBOU

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG rapide (Diff Quick®).

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 0,05% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient fébrile depuis 48 heures, au retour depuis 7 jours d'un séjour de deux semaines en Côte d'Ivoire. Pas de prophylaxie.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1196 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 de l'envoi précédent en 2000 d'un frottis sanguin parasité par *P.falciparum* d'une richesse comparable et comportant uniquement le stade « trophozoïte » sont rapportés dans le tableau IV.

tableau III - Ensemble des réponses des 1196 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	96,3	77,1 soit 81,7% des 1129 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Schizontes jeunes		4,0	
Schizontes âgés		2,0	
Gamétocytes		1,1	
divers/non précisés		0,4	
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		3,0
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		1,0
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		0,6
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,2
Absence de parasite			10,1
Parasites divers			0,2
« Frottis mal coloré. Illisible »			2,2
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			5,2

tableau IV - Bilan des deux opérations de contrôle « trophozoïtes *P. falciparum* » (parasitémie ≤ 0,1%)

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
2009	1196	0,05	77,1	4,8	10,1	7,8
2000	1301	0,1	80,9	15,2	2,2	1,7

Commentaires

C'est la première fois qu'un frottis comportant un pourcentage aussi faible d'hématies parasitées par *P. falciparum* était proposé dans le cadre du contrôle national de qualité. La proportion de laboratoires (un sur 10) n'ayant pas vu un seul trophozoïte sur l'ensemble du frottis est trop importante.

3 - Echantillons RABET ou JEFFRE

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis sanguin coloré au MGG rapide (Diff Quick®).

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant : Absence de parasite sanguin.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient fébrile depuis 48 heures, au retour depuis 7 jours d'un séjour de deux semaines en Côte d'Ivoire. Pas de prophylaxie.

Résultats des participants

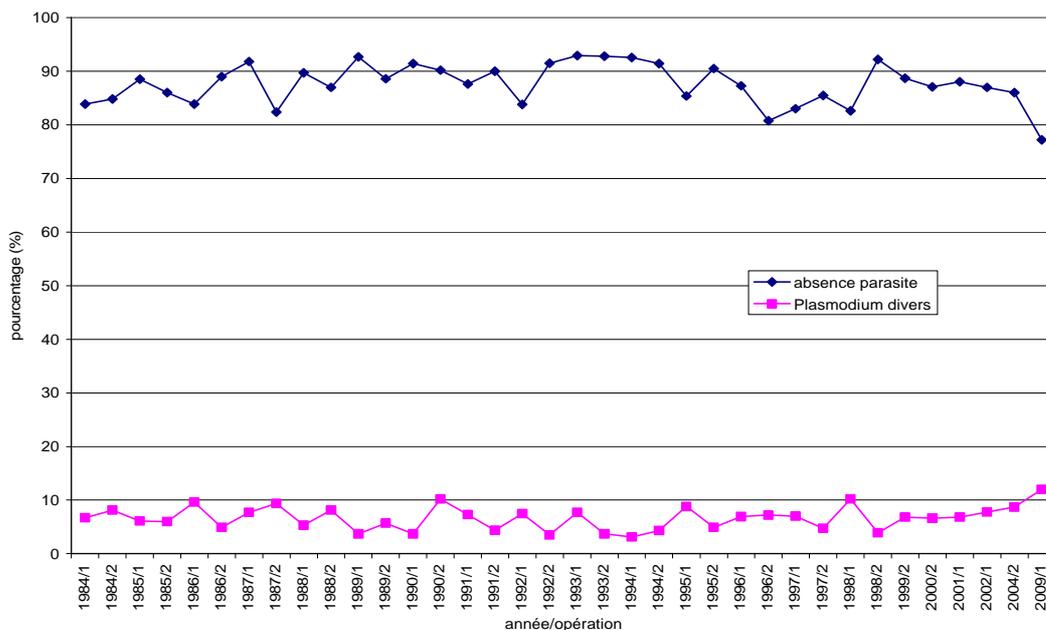
L'ensemble des réponses transmises par les 1194 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau V.

La figure 1 montre l'évolution des réponses obtenues, ces 25 dernières années, lors de l'envoi d'un frottis non parasité.

tableau V - Ensemble des réponses des 1194 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèces
Absence de parasite		77,2
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>	6,7
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>	2,3
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>	1,8
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>	1,2
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>	< 0,1
Parasites divers		0,3
« Frottis mal coloré. Illisible »		2,2
PAS DE REPONSE		0,8
EXAMEN TRANSMIS		6,4

figure 1 - Evolution des principales réponses obtenues pour un frottis sanguin non parasité (1984 - 2009)



Commentaires

L'analyse sur 25 ans des principales réponses obtenues lors des 36 opérations de contrôle qui comportaient un frottis sanguin non parasité (figure 1) ne montre pas de changement notable au fil du temps entre 1994 et 2004. En effet, le pourcentage de bonnes réponses « absence de parasite » varie, au cours de ces 20 années, de 80,8 à 92,9% (moyenne : 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%).

En revanche, les résultats obtenus en 2009 sont moins bons puisque, pour la première fois, on passe sous la barre des 80% de bonnes réponses avec un pourcentage élevé (12%) de faux diagnostics de Plasmodium.

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon FAURE ou GROBE

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Taenia sp.* (*Taenia saginata*)

Stade : embryophores ou œufs

Richesse de la selle : 3 à 6 œufs par lamelle 22X22

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Bilan systématique chez un patient n'ayant jamais quitté la France.

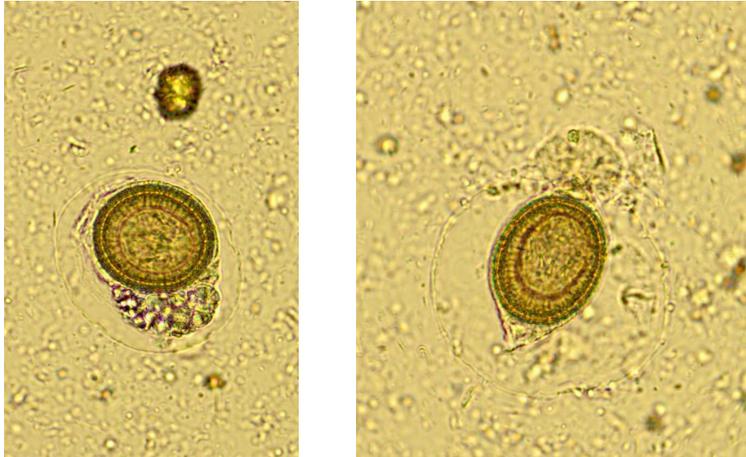


photo 3 et photo 4 : œufs de *Taenia spp.* (selle formolée 10%, grossissement X 400)



photo 5 : embryophore de *Taenia spp.* (selle formolée 10%, grossissement X 400)

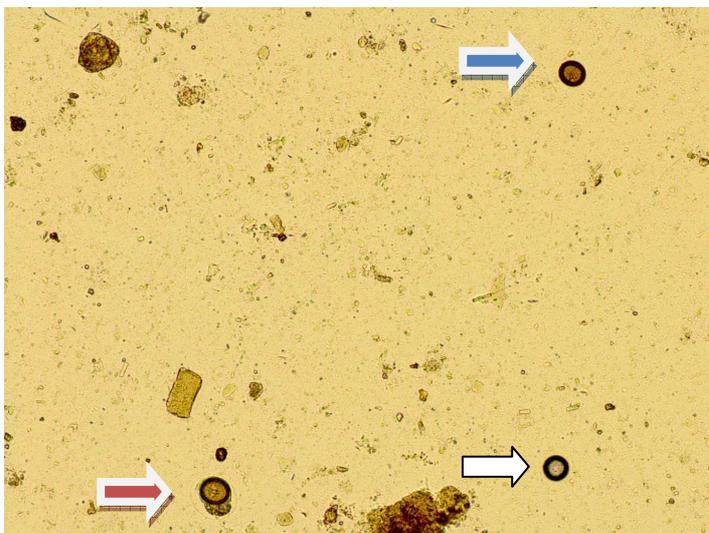


photo 6 : œuf (flèche rouge), embryophore (flèche bleue) et bulle (flèche blanche) au grossissement X 100

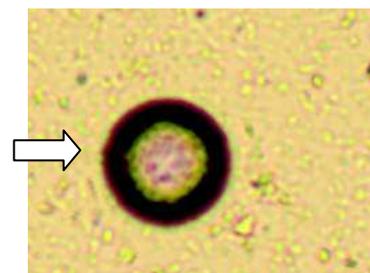
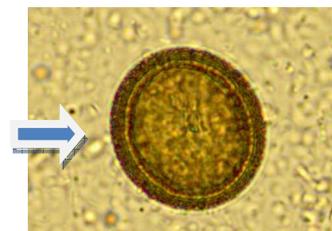


photo 7 : embryophore (flèche bleue) et bulle (flèche blanche) au grossissement X 400

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1196 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 six envois précédents d'une selle contenant des œufs ou embryophores de *T. saginata* sont rapportés dans le tableau VII.

tableau VI - Ensemble des réponses des 1196 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Oeuf	<i>T. saginata</i>	28,8	42,0 soit 46,9% des 1070 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Embryophore		15,2	
Stades divers/non précisés		0,4	
Oeuf	<i>Taenia sp.</i>	26,8	38,0
Embryophore		14,0	
Stades divers/non précisés		0,6	
Stades divers/non précisés	<i>T. solium</i>		3,2
Stades divers/non précisés	<i>Ascaris lumbricoides</i>		1,3
Absence de parasite			4,6
Helminthes divers			0,7
Protozoaires divers			2,3
PAS DE REPONSE			0,3
EXAMEN TRANSMIS			10,3

tableau VII - Bilan des sept opérations de contrôle «œufs ou embryophores de *Taenia saginata*».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de réponses « <i>T.saginata</i> » ou « <i>T.solium</i> » ou « <i>Taenia sp.</i> »	% réponse « <i>A.lumbricoides</i> »	% « transmis » ou absence de réponse
2009	1196	3 - 6	83,2	1,3	10,6
2007	1242	10 - 20	90,0	2,4	4,9
2004	1246	5 - 10	90,1	3,0	2,8
1998	1256	1 - 6	89,2	5,2	3,1
1990	1089	2 - 10	76,7	5,9	2,7
1986	614	5 - 30	79,6	11,4	2,6
1983	1074	5 - 35	78,9	10,6	1,5

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

Commentaires

Le diagnostic d'œuf ou d'embryophore de *Taenia sp.* a été fait par 83,2% des laboratoires, soit 7% de moins par rapport à l'envoi précédent en 2007 d'une selle trois fois plus riche.

Parmi ces laboratoires, plus de 3% ont identifié *Taenia solium* or, si le taeniasis à *Taenia saginata* est une affection bénigne qui ne comporte aucun risque de complication, il n'en est pas de même pour celui à *T. solium* qui peut être à l'origine d'une cysticercose.

De nombreux auteurs indiquent que le diagnostic différentiel entre les embryophores des deux espèces n'est microscopiquement pas possible. Néanmoins, quelques uns signalent une forme ovale pour les embryophores de *T. saginata* et plus arrondie pour ceux de *T. solium*. Le diagnostic différentiel peut également être orienté par les données épidémiologiques mais c'est l'étude du scolex de l'adulte avec présence ou non de crochets, ou celle des ramifications utérines des anneaux après injection d'encre de Chine qui permettront un diagnostic d'espèce certain.

En ce qui concerne le stade du parasite (œuf ou embryophore), les réponses rapportées dans le tableau VI montrent que le choix entre ces deux dénominations pose un problème.

L'œuf, mesurant 50 à 60 µm, comporte une membrane externe (coque) très mince avec un contenu translucide contenant des globules réfringents et l'embryophore (photos 3 et 4). L'embryophore, très réfringent avec une coque radiée et typiquement 3 paires de crochets centraux, mesure 30 à 40 µm (photo 5).

L'œuf se repère facilement grâce aux globules réfringents. Puis, un examen plus attentif permet de repérer les contours de la coque externe. Le plus souvent, dans les selles, les œufs perdent la membrane externe et il ne reste plus que l'embryon hexacanthé avec son enveloppe appelé embryophore. L'embryophore peut parfois être confondu avec des petites bulles (photo 6). Toutefois, au plus fort grossissement (X 400), la taille variable des petites bulles et surtout le vide optique central (complètement vide ou semblable au fond de la préparation) rétablissent rapidement le diagnostic (photo 7).

D'un point de vue scientifique, on devrait respecter la différence entre les dénominations « embryophore » et « œuf » ; mais d'un point de vue pratique, cela n'a pas de conséquence. De plus, les deux stades sont souvent présents simultanément avec prédominance d'embryophores comme c'est le cas ici.

Enfin, l'analyse des résultats des sept opérations de contrôle « *Taenia sp.* » qui ont eu lieu entre 1983 et 2009 montre une diminution constante de la confusion entre les œufs de *Taenia* et ceux d'*Ascaris lumbricoides* (tableau VII).

2 - Echantillon COMA ou MISSOU

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Giardia intestinalis*

Stade : kystes

Richesse de la selle : un kyste par champ (Obj. X40)

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen d'orientation devant une diarrhée chronique.

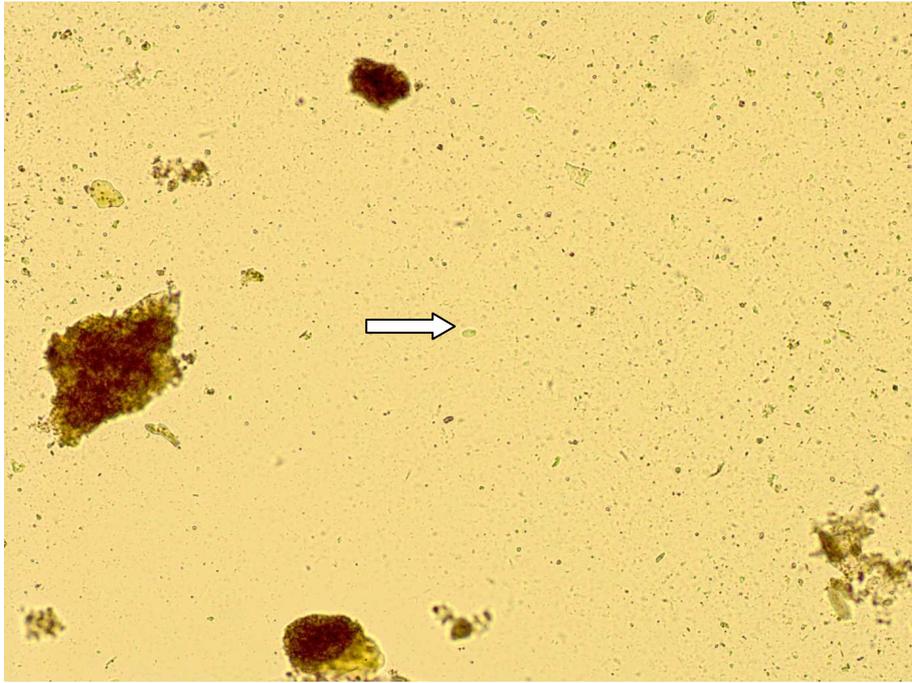
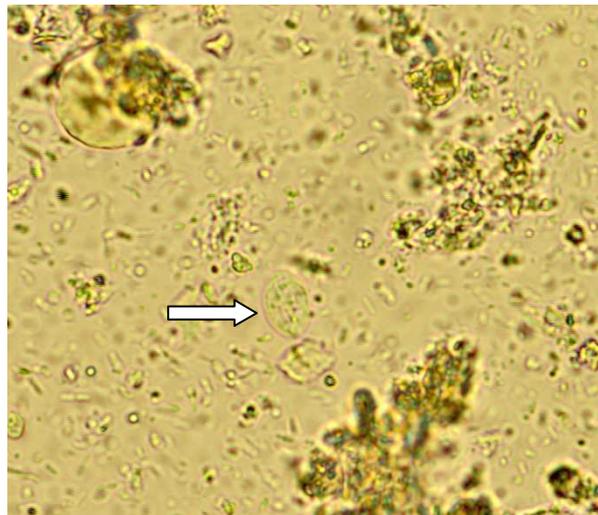
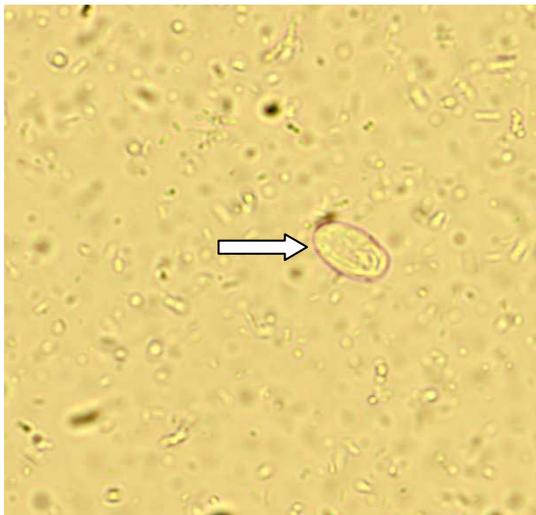


photo 8 : Kyste de *Giardia intestinalis* (selle formolée 10%, grossissement X 100)



photos 9 et 10 : Kystes de *G. intestinalis* (selle formolée 10%, grossissement X 400)

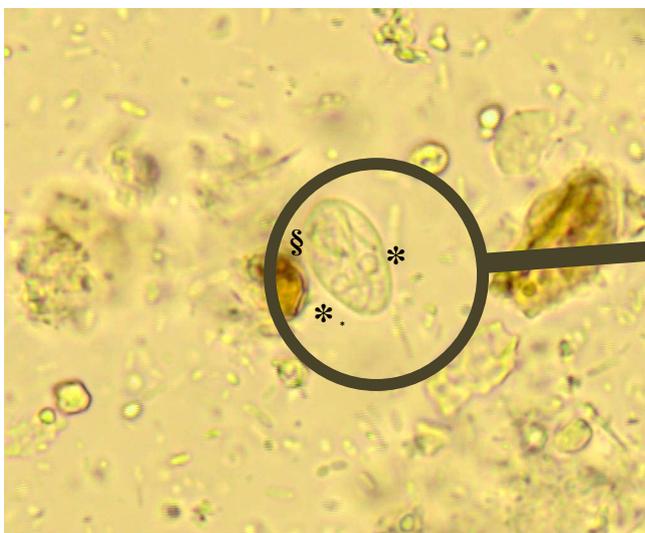


photo 11 : Kyste de *G. intestinalis* avec 2 noyaux (*) et 1 corps parabasal (§), à l'immersion à l'huile (grossissement X 500).

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1189 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VIII.

Pour rappel, les pourcentages des réponses obtenues lors des six envois précédents d'une selle contenant des kystes de *Giardia intestinalis* sont rapportés dans le tableau IX.

tableau VIII - Ensemble des réponses des 1189 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Kyste	<i>Giardia intestinalis</i>	86,0	87,6 soit 95,2% des 1141 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Forme végétative		6,9	
Stades divers/non précisés		1,1	
<i>Pseudolimax butschlii</i>			2,3
Protozoaires divers			3,9
Helminthes divers			0,9
Absence de parasite			1,6
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			8,6

tableau IX - Bilan des sept opérations de contrôle « Kystes de *Giardia intestinalis* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de bonnes réponses « <i>Giardia intestinalis</i> »	% réponse « absence de parasite »	% « transmis » ou absence de réponse
2009	1189	1	87,6	1,6	9,0
2007	1253	1 - 2	90,8	2,0	4,8
2004	1266	1 - 2	94,3	0,5	3,2
2002	1326	1 - 3	92,1	2,9	2,9
1999	1298	2 - 5	93,8	1,5	2,6
1998	1297	2 - 5	93,4	2,5	2,1
1995	1268	1	97,0	0,7	0,8

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

Commentaires

La selle « COMA » ou « MISSOU » contenait des kystes de *G. intestinalis* qui ont été vus par 95,2% des laboratoires ayant rendu un diagnostic ; ce qui confirme que le diagnostic de ce protozoaire ne pose pas de problème.

Giardia intestinalis est un protozoaire flagellé intestinal qui infecte l'homme et l'animal. Cosmopolite, sa prévalence varie selon l'âge et le climat : de l'ordre de 1 à 7% dans les pays industrialisés, sa fréquence passe à 5–50% dans les pays en voie de développement. La giardiose touche essentiellement les enfants et les immunodéprimés (SIDA, hypogammaglobulinémie, malnutrition).

Cliniquement, cette parasitose est souvent asymptomatique mais parfois elle peut se traduire par des troubles digestifs tels que des douleurs abdominales, crampes, nausées, vomissements avec des selles pâteuses ou grasses.

La contamination est oro-fécale directe ou par l'intermédiaire d'aliments souillés par des kystes. Le cycle est simple et direct : après ingestion de kystes et lyse de leur paroi, les formes végétatives sont libérées dans le duodénum où elles se multiplient par division binaire et adhèrent à la muqueuse intestinale. Lors de leur transit vers le gros intestin, elles s'entourent d'une membrane qui devient de plus en plus épaisse et résistante pour former des kystes qui sont éliminés dans les selles et qui sont directement infestants. Les kystes de *G. intestinalis* sont souvent abondants et faciles à reconnaître.

A faible grossissement, ils sont réfringents, ovalaires avec un aspect dit en « grain de riz » (photo 8). Quand ils sont typiques, on observe à plus fort grossissement, la présence d'un faisceau de flagelles qui barre en « S » le kyste dans sa longueur (photos 9 et 10). Le cytoplasme se décolle fréquemment de la paroi (aspect en double paroi). A l'immersion à l'huile, on observe plus facilement la présence de noyaux, 2 à 4 selon la maturité du kyste, et des 2 corps parabasaux (photo 11). Les kystes mesurent de 10 à 15 µm de long sur 8 à 9 µm de large.

3 - Echantillon ROSSOT ou JALIN

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

Le diagnostic des experts Dr S. HOUZE (Paris), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Trichuris trichiura* + *Entamoeba coli*

Stade : œufs + kystes

Richesse de la selle : 5 œufs par lamelle 22X22 et un kyste tous les 10 champs (Obj. X 40).

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Examen chez un enfant présentant des troubles digestifs au retour d'un séjour au Sénégal.



photo 12 : Œuf de trichocéphale (état frais, grossissement X 400)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1194 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau X.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors de l'envoi précédent d'une selle contenant, entre autres, des œufs de *Trichuris trichiura* en quantité comparable sont rapportés dans le tableau XI.

tableau X - Ensemble des réponses des 1194 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
divers/non précisés	<i>Trichuris trichiura</i> *		82,8 soit 90,9% des 1089 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
divers/non précisés	<i>Entamoeba coli</i> *		59,0 soit 64,8% des 1089 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
divers/non précisés	<i>E. histolytica</i>		1,9
Protozoaires divers			3,0
Helminthes divers			0,5
Absence de parasite			0,6
PAS DE REPONSE			-
EXAMEN TRANSMIS			8,8

* : 58,2% des 1089 laboratoires ayant rendu un diagnostic ont noté la présence des deux parasites.

tableau XI - Bilan de deux opérations de contrôle mélange « Œufs *Trichuris trichiura* + autre parasite ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	Autre parasite présent	% de bonnes réponses « <i>T. trichiura</i> »	% « transmis » ou absence de réponse
2009	1194	5	Kystes <i>E. coli</i>	82,8	8,8
2003	1295	4 - 8	Œufs <i>Ascaris</i>	94,5	1,6

* : nombre d'œufs de *T. trichiura* par lamelle 22X22

Commentaires

La trichocéphalose est une parasitose cosmopolite, liée au péril fécal, favorisée par l'usage d'engrais humain. Elle est peu pathogène et souvent de découverte fortuite.

Les œufs sont facilement repérés au grossissement X100, et leur identification est confirmée au grossissement X400. Les œufs ont une forme ovale caractéristique « en citron ». Ceux-ci mesurent 55 µm de long par 20 µm de large, et ne sont pas embryonnés à la ponte. Ils sont de couleur brun. Ils ont une double coque épaisse, interrompue à chaque extrémité par un bouchon muqueux.

Entamoeba coli est un protozoaire amiboïde se déplaçant par l'émission de pseudopodes. Cette amibe de grande taille, commensale du colon est très fréquente. Sa répartition est cosmopolite et on recense 5 à 20% de porteurs selon les régions. Son rôle pathogène est nul mais elle doit être différenciée d'*Entamoeba histolytica* à laquelle elle peut être associée.

Cette amibe existe sous deux formes : le trophozoïte ou forme végétative et le kyste ou forme de résistance.

Le kyste mesure de 15 à 25 µm de diamètre et est arrondi ou ovale, à contours nets. Il comporte 8 noyaux, parfois 16, souvent groupés, de type entamoeba, avec un caryosome central ou excentré et une chromatine périphérique épaisse et irrégulière. Les formes pré-kystiques à 1, 2 ou 4 noyaux comportent une grosse vacuole et parfois des chromidiums effilés en forme d'aiguille.

Sa présence dans les selles est la preuve que le porteur a consommé des aliments souillés par une contamination d'origine fécale. En cas de troubles digestifs associés, la recherche d'autres pathogènes liés au péril fécal est justifiée. En l'absence de troubles, il n'y a pas lieu d'administrer un traitement. Un examen de contrôle à distance de tout repas potentiellement contaminant permettra de vérifier la disparition spontanée du parasite.

Mycologie

1 - Echantillon FIADJO ou GABA

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Microsporium audouinii* sur milieu Sabouraud chloramphénicol. Cette souche a été fournie par le Pr J.C. GANTIER (Faculté de Pharmacie, Chatenay Malabry).

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Alopécie circulaire de grande taille, positive à la lumière de Wood, observée chez un enfant de 6 ans, de retour d'un séjour au Burkina Faso.



photo 13. *Microsporium audouinii* sur Sabouraud
Aspect macroscopique (recto)



photo 14. *Microsporium audouinii* sur Sabouraud
Aspect macroscopique (verso)

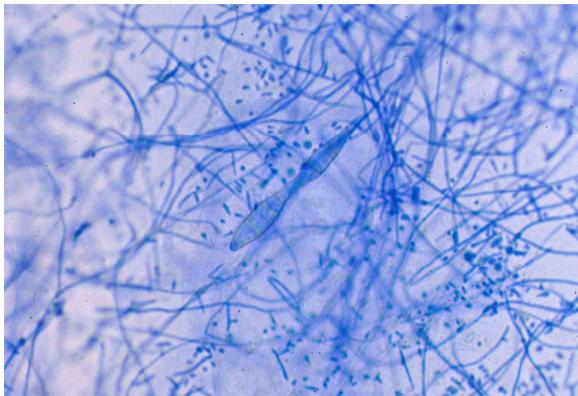


photo 15. *Microsporium audouinii*
Aspect microscopique : macroconidie

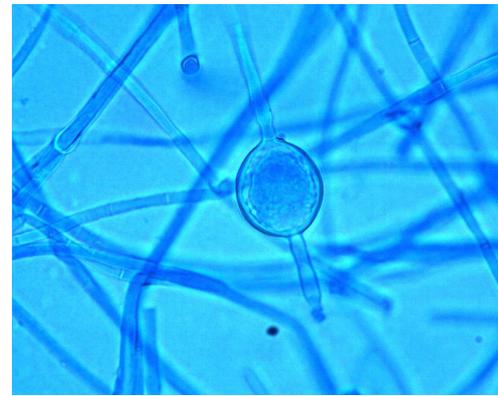


photo 16. *T. rubrum* souche africaine
Aspect microscopique : chlamydospore

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1196 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XII.

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

tableau XII - Bilan des réponses des 1196 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Microsporium audouinii</i>	79,8 soit 93,2% des 1025 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Trichophyton schoenleinii</i>	1,7
<i>Microsporium canis</i>	1,7
<i>Trichophyton rubrum</i>	1,3
Dermatophytes ou filamenteux divers	1,4
Pas de réponse	0,4
Examen transmis	13,9

tableau XIII - Bilan des quatre opérations de contrôle « *Microsporium audouinii* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de réponses			% « examen transmis » ou absence de réponse
		« <i>M. audouinii</i> »	<i>Microsporium</i> autres espèces	<i>Trichophyton</i> divers	
2009	1196	79,8	2,0	3,7	14,3
1997	1217	47,7	7,7	31,3	11,7
1992	1086	40,2	14,5	28,4	11,3
1984	943	42,3	2,5	28,0	20,5

Commentaires

Près de 80% des résultats sont conformes à la réponse attendue : *Microsporium audouinii*. Pour mémoire, nous avons comme bonnes réponses en 1997 : 47,7%, en 1992 : 40,2%, et en 1984 : 40,3%. Incontestablement, on observe une nette progression du nombre de réponses exactes. Il convient de s'en féliciter. Par ailleurs, 85% des participants diagnostiquent un dermatophyte, ce qui permet d'instaurer un traitement adapté et la guérison du patient.

En ce qui concerne les confusions (qui ne touchent qu'à peine 5% des participants), rappelons les caractéristiques morphologiques de quelques dermatophytes :

- *Trichophyton schoenleinii*

Cet agent de teigne anthropophile, dont la clinique est caractéristique (« favus ») et qui présente une fluorescence verte ou jaune-vert en lumière de Wood, est devenu très rare aujourd'hui.

Les colonies, blanchâtres à grises, sont glabres et le plus souvent cérébriformes, entourées d'un duvet blanc au recto, avec un recto jaune pâle.

Microscopiquement, on observe au sein d'un mycélium stérile des filaments plus épais, qui se ramifient de manière dichotomique en dessinant des aspects en « bois de cerf » ou en « chandeliers ». Certains filaments isolés peuvent présenter une extrémité aplatie (aspect de « clou favié »). On observe aussi des chlamydospores, mais plus petites que celle de *M. audouinii*.

- *Microsporium canis*

Les colonies sont d'aspect étoilé, avec une texture duveteuse à laineuse et une couleur jaune clair au recto et jaune orangé au verso. Microscopiquement, on observe de nombreuses macroconidies à paroi épaisse en forme de fuseau à extrémité pointue (aspect en « quenouille ») et de plus rares microconidies piriformes. La confusion avec *M. audouinii* peut venir de souches dysgoniques, dans lesquelles des macroconidies malformées, ou d'aspect « boudiné » peuvent être observées.

Il convient de souligner que le contexte épidémiologique est différent. En effet, *M. canis* est un dermatophyte zoophile plutôt autochtone ; on retrouve habituellement la notion de contact avec un animal familial (en particulier le chat).

- *Trichophyton rubrum*

T. rubrum n'est en pratique impliqué dans des lésions de teigne du cuir chevelu que de manière très exceptionnelle. La recherche d'une fluorescence en lumière de Wood sera négative.

En ce qui concerne le diagnostic de l'espèce *Microsporium audouinii* (ou *Microsporium audouinii* var. *langeronii*), l'identification repose sur les critères suivants :

- Épidémiologie

Principal agent responsable des épidémies de teignes tondantes au siècle dernier, *M. audouinii* a pratiquement disparu d'Europe. Par contre, *M. audouinii* var. *langeronii* (*M. langeronii*) reste très fréquent en Afrique noire. Il est également présent en France dans les grandes villes cosmopolites, où sont installées les familles immigrées venues d'Afrique noire. Anthropophile strict, il donne des teignes tondantes ainsi que des épidermophyties circinées. La contamination se fait directement de tête à tête ou par l'intermédiaire des peignes, brosses, foulards... La femme adulte peut par ailleurs conserver des lésions discrètes du cuir chevelu et transmettre une teigne à ses enfants. La distinction entre *M. audouinii* stricto sensu et *M. audouinii* var. *langeronii* n'est pas morphologique, il s'agit bien de la même espèce et c'est l'origine géographique du patient qui permet cette distinction.

- Clinique

Il provoque, essentiellement chez l'enfant, des teignes tondantes à grandes plaques d'alopecie, donnant une fluorescence verte sous lumière de Wood. Non traitées, ces plaques guérissent (ou disparaissent quasiment) le plus souvent spontanément à la puberté, surtout chez les garçons.

M. audouinii donne également de rares lésions de la peau glabre (épidermophyties circinées peu inflammatoires).

- Diagnostic mycologique

Il repose d'abord sur l'examen direct : présence de filaments septés dans les squames et parasitisme pileaire endo-ectothrix de type microsporique.

La culture sur milieu de Sabouraud (avec et sans Actidione®) est souvent pauvre en spores et nécessite des repiquages sur milieux spécifiques. Cependant, certaines souches poudreuses sont riches en conidies.

- Aspect macroscopique sur milieu de Sabouraud (photos 13 et 14) :

M. audouinii pousse en 8-10 jours sur milieu de Sabouraud, mais la culture ne devient caractéristique qu'au bout de 15 jours. Les colonies, qui s'étalent assez rapidement, sont plates, duveteuses à poudreuses et de couleur blanc grisâtre (photo 13). Le pourtour des colonies est arrondi ou avec des franges peu marquées. Le revers des cultures est beige à saumon, parfois incolore (photo 14).

- Aspects microscopiques sur milieu de Sabouraud :

Le mycélium est épais et cloisonné, avec de rares chlamydospores terminales (à l'extrémité d'un filament) (photo 16) ou intercalaires, ainsi que des organes pectinés ou nodulaires. Les macroconidies sont habituellement absentes ; quand elles existent, elles présentent une paroi épaisse, rugueuse et sont souvent déformées avec un étranglement en leur centre: aspect en « bissac » (photo 15). Des microconidies piriformes sont présentes dans les souches poudreuses.

- Examens complémentaires

Il est parfois nécessaire de repiquer les souches sur d'autres milieux (PDA, Malt ou Lactrimel de Borelli) pour obtenir des fructifications et/ou favoriser la production d'un pigment jaune.

En conclusion

Causées par des espèces anthropophiles, les teignes à *M. audouinii* sont très contagieuses et nécessitent donc un diagnostic rapide. L'éviction scolaire, instaurée précocement, pourra être levée après avoir débuté le traitement. Un délai de 8 jours peut ainsi être demandé, puis un certificat de « non-contagiosité » sera alors rédigé par le médecin traitant.

Sur le plan mycologique, il faut surtout retenir :

- à l'examen direct, un parasitisme pileaire endo-ectothrix de type microsporique.

- en culture, une croissance modérément rapide, des colonies blanchâtres finement duveteuses qui s'étalent à la surface de la gélose. Microscopiquement, on observe le plus souvent en primo-culture des souches quasi stériles, composées uniquement d'un mycélium « en raquette » avec des chlamydospores souvent volumineuses, terminales ou intercalaires. Certaines souches sont cependant très sporulantes, avec de nombreuses microconidies piriformes et quelques macroconidies échinulées. Certaines de ces fructifications peuvent ressembler à celles de *M. canis*, mais d'autres plus caractéristiques présentent un étranglement au centre (aspect en « bissac »).

D. CHABASSE et M. PIHET, C.H.U, Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Angers.

Bibliographie

Chabasse D, Bouchara JP, de Gentile L, Brun S, Cimon B, Penn P. Les Dermatophytes. Cahier de Formation Bioforma n°37, éditions Bioforma, 2004, 1 59 pp.

Chabasse D, Contet-Audonno N, Bouchara JP, Basile AM. Moisissures, Dermatophytes, Levures: du prélèvement au diagnostic, éditions bioMérieux, 2008, 189 pp.

Chabasse D, Pihet M. Les Dermatophytes : les difficultés du diagnostic mycologique. La Revue Francophone des Laboratoires 2008; 406: 29-36.

Lacroix C, Feuilhade de Chauvin M. Mycoses d'importation, Chabasse D. et Develoux M. coordinateurs, Guides Médi/Bio, éditions Elsevier, 2003; 3-15.

2 - Echantillon CHARPO ou MEGIER

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche d'*Absidia corymbifera* (*Lichtheimia corymbifera*) sur milieu Sabouraud chloramphénicol. Cette souche a été fournie par le Pr J.C. GANTIER (Faculté de Pharmacie, Chatenay Malabry).

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants :

Lésion granulomateuse sous-cutanée chez un patient VIH + et ayant moins de 200 CD4/mm³.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1189 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XIV.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors de l'envoi précédent en 1998, d'une souche d'*Absidia corymbifera* sont rapportés dans le tableau XV.

tableau XIV - Bilan des réponses des 1189 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Absidia sp.</i>	50,0 soit 57,9% des 1027 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>mucoracée</i>	17,9
<i>Mucor sp.</i>	6,7
<i>Rhizopus sp.</i>	4,5
<i>Aspergillus flavus</i>	1,5
<i>Aspergillus divers</i>	2,4
Filamenteux divers	1,4
Levures diverses	1,1
Dermatophytes divers	0,8
Pas de réponse	0,8
Examen transmis	12,9

tableau XV - Bilan des deux opérations de contrôle «*Absidia corymbifera*».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de réponses				% « examen transmis » ou absence de réponse
		Mucoracée *	<i>Aspergillus</i>	Filamenteux	Dermatophytes	
2009	1189	79,1	3,9	1,4	0,8	13,7
1998	1256	79,2	1,9	1,6	3,2	12,2

* : correspond au total des réponses : « mucoracée », « *Absidia* », « *Rhizopus* », « *Mucor* ».

Commentaires

Normalement, ce genre (*Absidia sp.*) est un grand classique et ne doit pas poser de problème d'identification. La moitié des laboratoires participants ont rendu ce diagnostic.

Presque un sur cinq reconnaissent une Mucoracée mais ne poussent pas l'identification jusqu'au genre ; ce qui est convenable, mais trop vague pour un diagnostic.

Il est vraiment dommage que certains laboratoires se soient donné la peine de tenter une identification sans parvenir au genre correct (4,5% *Rhizopus sp.* et 6,7% *Mucor sp.*). La différenciation de ces genres est assez aisée et ne devrait pas poser de problèmes (cf. clé des principaux genres ci-dessous).

En totalisant l'ensemble des réponses faisant référence à la classe des Mucorales, on obtient 79,1% de bonnes réponses, pourcentage identique à celui obtenu lors de l'envoi précédent.

On note que 3,9% des laboratoires confondent les mucorales avec les *Aspergillus*, ce qui est vraiment incompréhensible car le sporocyste des Mucorales ne ressemble en rien aux têtes aspergillaires.

La confusion avec des levures ou avec des dermatophytes montre que certains laboratoires ont une méconnaissance totale de la mycologie.

Comment déterminer un Zygomycota ?

Il faut utiliser différents milieux de culture ainsi que des cultures sur lame. Les meilleurs sont ceux qui permettent une croissance limitée et une bonne visualisation de l'organisation fongique. Les milieux contenant très peu de glucose (agar à l'extrait de malt (MEA), agar à l'extrait de cerise (CDA), agar à l'eau, milieu de Czapek (CZA), milieu amidon de pomme de terre-glucose (PDA)...) ainsi que pour un certain nombre d'espèces un pH relativement acide (pH 4) sont recommandés.

Les cultures sur lame doivent être rapidement examinées car en 72 ou 48 heures le champignon peut déborder de la lamelle.

Clé des principaux genres de Mucorales et Mortierellales

1a	Sporocyste digitiforme ou produisant peu d'endospores	2
1b	Sporocyste produisant des très nombreuses endospores	4
2a	Sporocyste allongé, cylindrique (mérosporocyste) avec endospores alignées.....	Genre <i>Syncephalastrum</i>
2b	Sporocyste produisant une ou peu d'endospores	3
3a	Sporocyste secondaire au sommet de filaments courbés.....	Genre <i>Cokeromyces</i>
3b	Sporocyste naissant sur des vésicules arrondies et produisant une endospore	Genre <i>Cunninghamella</i>
4a	Sporocyste en forme de flacon (sur agar à l'eau)	Genre <i>Saksenaea</i>
4b	Sporocyste sphérique ou piriforme.....	5
5a	Sporocyste habituellement piriforme; présence d'une large apophyse sur au moins 1/4 du sporocyste	6
5b	Sporocyste sphérique; apophyse absente ou lorsqu'elle est présente elle est inférieure au 1/5 du sporocyste	8
6a	Formation de chlamydo-spores noires, cloisonnées, allongées et terminales dans le mycélium aérien.....	Genre <i>Chlamydoabsidia</i>
6b	Absence de chlamydo-spore noire et septée	7
7a	Apophyse triangulaire bien visible, zygos-pore avec fulcres (non thermotolérant)	Genre <i>Absidia</i>
7b	Apophyse triangulaire, zygos-pore nue sans fulcre, thermotolérant	Genre <i>Lichtheimia</i>
7c	Apophyse évasée et longue	Genre <i>Apophysomyces</i>
8a	Sporocyste sans columelle.....	Genre <i>Mortierella</i>
8b	Sporocyste avec columelle.....	9
9a	Zygos-pore toujours présente avec suspenseurs inégaux.....	Genre <i>Zygorhynchus</i>
9b	Zygos-pore, lorsqu'elle est présente, suspenseurs égaux	10
10a	Sporocyste avec petite apophyse; sporocystes groupés sans ramification; présence de rhizoïdes mélanisés.....	Genre <i>Rhizopus</i>
10b	Absence des caractères précédents	11
11a	Présence de rhizoïdes non mélanisé; sporocyste ramifié	Genre <i>Rhizomucor</i>
11b	Absence de rhizoïde; sporocyste ramifié	Genre <i>Mucor</i>

Le problème de nomenclature du genre : *Absidia*, *Mycocladius*, *Lichtheimia*.

Entre 2007 et 2010, le genre *Absidia* a subi un profond remaniement. En 2007, Hoffmann et al. ont fait une révision de ce genre et ont réintroduit le genre *Mycocladius* créé par Beauverie en 1900. Ce genre devait regrouper les espèces thermotolérantes présentant aussi une zygos-pore sans appendice. C'est

ainsi que pendant environ 2 ans, *Absidia corymbifera* a été nommé *Mycocladius corymbifer*. En 2009, Hoffman et al. rétablissent le bon binôme qui doit être utilisé aujourd'hui : *Lichtheimia corymbifera*.

Caractéristiques du genre ABSIDIA

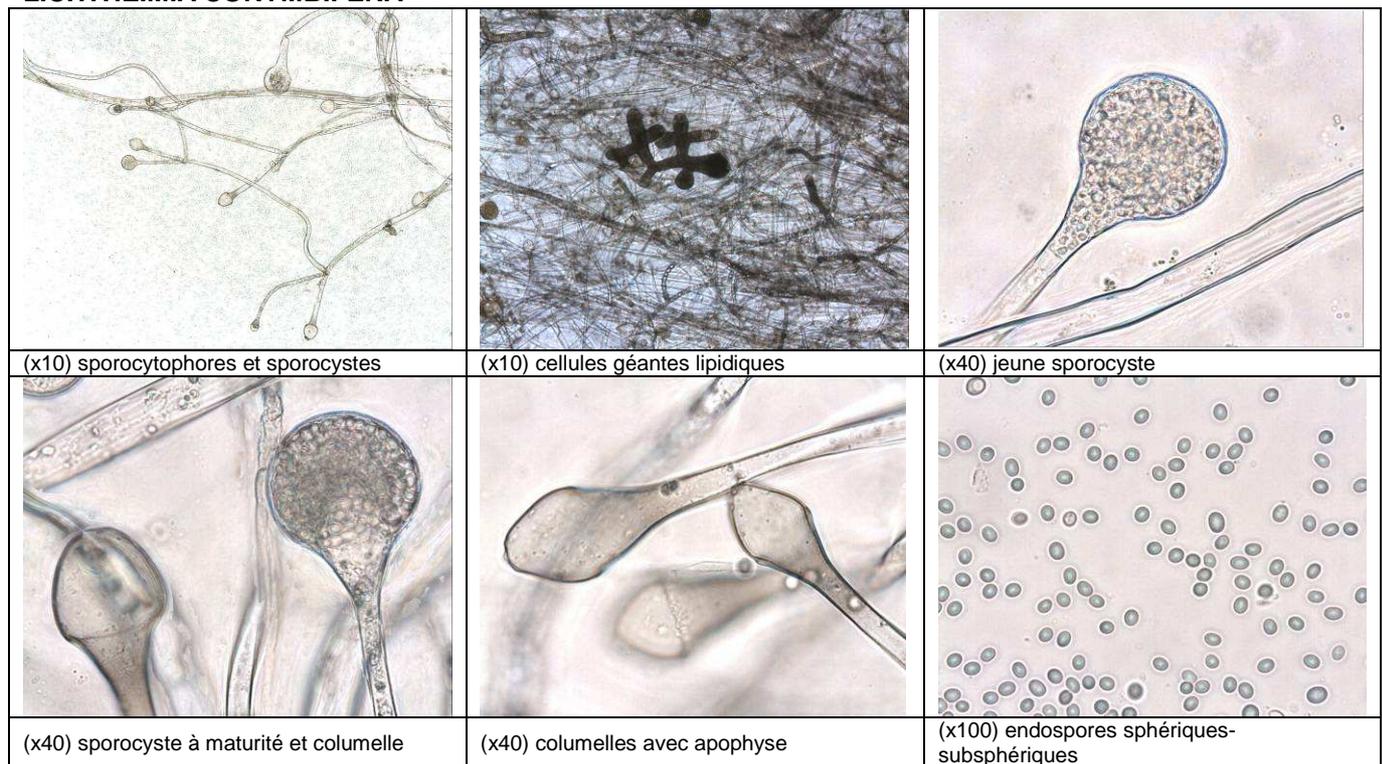
Sur MEA, PDA, CDA, la colonie se développe rapidement. Elle est d'allure laineuse. On observe la présence de stolons et rhizoïdes hyalins. Les sporocystophores abondamment ramifiés sont plus ou moins dressés et perpendiculaires le long des stolons. La columelle est piriforme et surmonte une apophyse en forme d'entonnoir. La collerette reste adhérente sur le pourtour de l'apophyse. Les endospores (sporocystospores) sont sphériques ou ovoïdes à paroi lisse très rarement échinulées. Les zygospores, lorsqu'elles sont produites sont entourées de fulcres. Les suspenseurs sont sensiblement égaux. Les espèces sont soit homothalliques, soit hétérothalliques. (Ellis & Hesseltine, 1965 ; Hesseltine & Ellis, 1966 ; Zycha & al., 1969 ; Scholer & al., 1983 ; Schipper, 1990). Les espèces de ce genre ne sont pas thermotolérantes.

Caractéristiques du genre LICHTHEIMIA

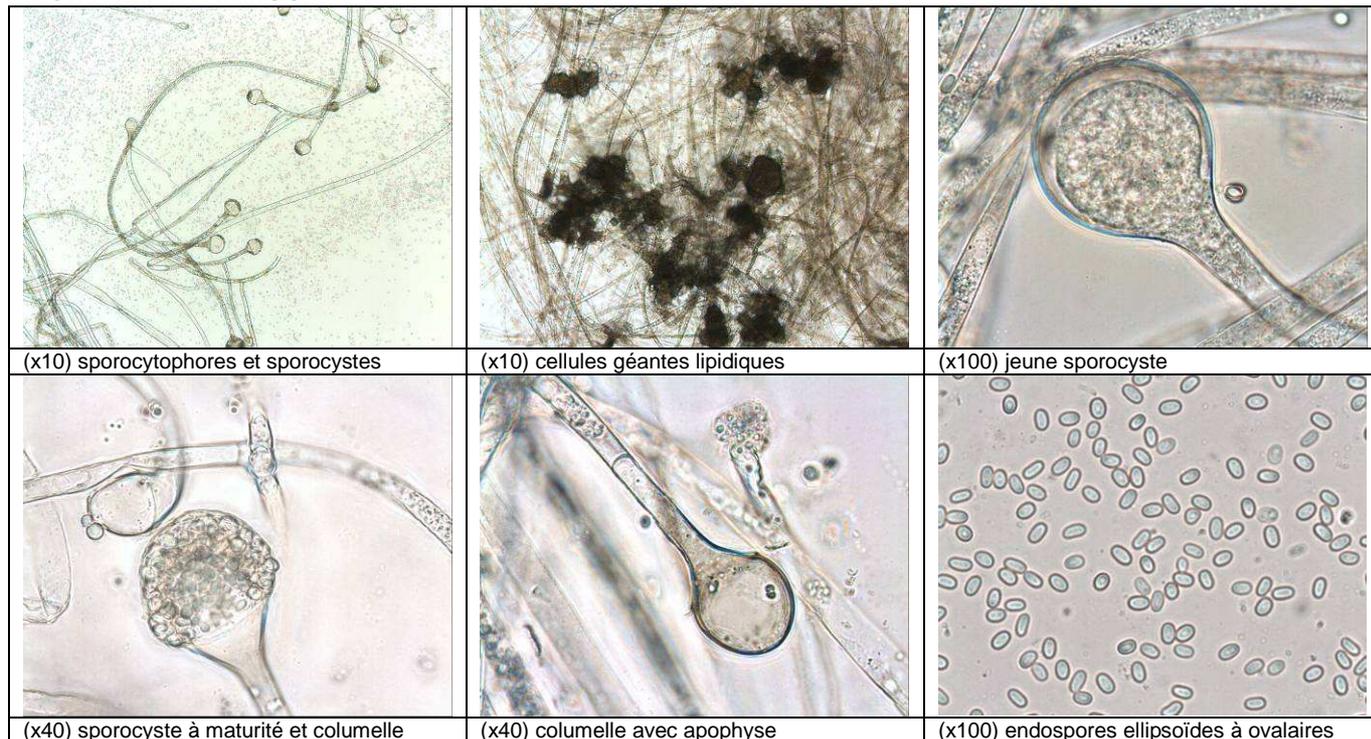
Les champignons de ce genre sont thermotolérants (max 55°C), non phototrophiques. Une colonie sur MEA (optimum entre 37 et 42°C) est rapidement extensive, blanche à gris-brun. Le mycélium est abondamment ramifié avec stolons et rhizoïdes. En microscopie, les sporocystophores sont solitaires ou groupés. Les sporocystes sont sphériques à piriformes (100-120µm) et la columelle représentant 40-60% du sporocyste avec une apophyse conique nettement visible. Les endospores à parois lisses, sphériques, font 3-4µm de diamètre. Les zygospores, lorsqu'elles sont produites ne sont pas ornementées de fulcres.

Pendant plusieurs décennies *L. corymbifera* et *L. ramosa* ont été considérés comme synonymes. La différenciation n'est pas toujours aisée ; mais, à maturité les endospores de *L. ramosa* sont nettement ellipsoïdes (ovoïdes) de 4-5 x 2,5µm (Garcia-Hermoso et al, 2009) (photos ci-dessous).

LICHTHEIMIA CORYMBIFERA



LICHTHEIMIA RAMOSA



LES PRINCIPALES ESPÈCES DU GENRE LICHTHEIMIA

Lichtheimia corymbifera (Cohn) Vuill., Bull. Soc. mycol. Fr. 19: 126 (1903). MycoBank no.: MB416447

Basionyme: *Mucor corymbifer* Cohn, in Lichtheim, Z. Klin. Med. 7: 149 (1884).
Synonyme: *Mycocladius corymbifer* (Cohn) J.H. Mirza, in Mirza et al., Mucor. Pakistan (Faisalabad): 95 (1979); as 'corymbifera'.

Lichtheimia ramosa (Zopf) Vuill., Bull. Soc. mycol. Fr. 19: 126 (1903). MycoBank no.: MB416448

Basionyme: *Mucor ramosus* Zopf, in Schenk, Handb. Botanik 4: 587 (1890).
Synonymes: *Mucor ramosus* Zopf, in Lindt, Arch. Exp. Path. Pharmacol. 21: 269 (1886); nom. illegit. (Art. 53).
Mycocladius ramosus (Zopf) J.H. Mirza, in Mirza et al., Mucor. Pakistan (Faisalabad): 95 (1979).

Lichtheimia blakesleeana (Lendn.) K. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, comb. nov. MycoBank no.: MB512831

Basionyme: *Absidia blakesleeana* Lendn., Bull. Soc. Bot. Gene`ve, Se`r. 2, 15: 149 (1924)
Synonyme: *Mycocladius blakesleeanus* (Lendn.) J.H. Mirza, in Mirza et al., Mucor. Pakistan (Faisalabad): 94 (1979).

Lichtheimia hyalospora (Saito) K. Hoffm., G. Walther & K. Voigt, comb. nov. MycoBank no.: MB512830

Basionyme: *Tieghemella hyalospora* Saito, Zentbl. Bakt. ParasitKde, Abt. 2, 17: 103 (1906).
Synonymes: *Absidia hyalospora* (Saito) Lendn., Mat. Fl. Cryptog. Suisse 3(1): 142 (1908).
Mycocladius hyalosporus (Saito) J.H. Mirza, in Mirza et al., Pakistan (Faisalabad): 97 (1979).

Lichtheimia hongkongensis Woo et al, Diagn Microbiol Infect Dis. 2010 Mar;66(3):274-84.

Cette espèce récemment décrite semble avoir de très grandes affinités avec *Lichtheimia ramosa*

Lichtheimia ornate (A.K.Sarbhoy) Alastruey-Izquierdo comb nov., J Clin Microbiol., 48: 2164 (2010)

MycoBank no.: MB51606
Basionyme: *Absidia ornata*

Lichtheimia sphaerocystis Alastruey-Izquierdo & al., J Clin Microbiol., 48: 2164 (2010) MycoBank no.: MB51605

Importance médicale

Les mucormycoses sont des maladies rares, cosmopolites dues à différentes espèces de Mucorales dont *L. corymbifera* ou *L. ramosa*.

L'acidose lors du diabète acido-cétosique est un facteur de prédisposition important, l'immunodépression acquise (hémopathies malignes, transplantation d'organes, greffes, corticothérapie prolongée, SIDA ...) également, ainsi qu'une thérapeutique particulière utilisant la déféroxamine dans l'hémochromatose primitive, l'hémosidérose secondaire, les intoxication martiales aiguës ou l'intoxication aluminique.

Enfin, la malnutrition protidocalorique (Kwashiorkor), les brûlures étendues, la grande prématurité sont aussi des facteurs de risque.

JC GANTIER, Faculté de Pharmacie, Chatenay Malabry.

Bibliographie

Systématique du genre

DE HOOG G.S., GUARRO J., GENE J., FIGUERAS M.J. -2000- Atlas of clinical fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherland. 2nd Ed 1126 pages

ELLIS J.J., HESSELTINE C.W. -1965- The genus *Absidia* : Globose-spored species. Mycologia 57: 222-235

GANTIER J.C. Les moisissures: Champignons contaminants et opportunistes en biologie médicale. 1^{ère} partie : Les Zygomycota Eurobiologiste 35,(273):1-14

GARCIA-HERMOSO D, HOINARD D, GANTIER JC, GRENOUILLET F, DROMER F, DANNAOUI E., -2009- Molecular and phenotypic evaluation of *Lichtheimia corymbifera* (formerly *Absidia corymbifera*) complex isolates associated with human mucormycosis : rehabilitation of *L. ramosa*. J Clin Microbiol. 2009 Dec;47(12):3862-70

HESSELTINE C.W., ELLIS J.J. -1966- Species of *Absidia* with ovoid sporangiospores I. Mycologia 58: 761-785

HOFFMANN K., DISCHER S., VOIGT K. -2007- Revision of the Genus *Absidia* (Mucorales, Zygomycetes): based on physiological, phylogenetic and morphological characters: Thermotolerant *Absidia spp.* form a coherent group, the Mycocladiaceae fam. nov. Mycol. Res., 111: 1169-1183

HOFFMANN K., WALTHER G., VOIGT K. -2009- *Mycocladus* vs. *Lichtheimia* : a correction (Lichtheimiaceae fam.nov., Mucorales, Mucormycotina) Mycol. Res., 113: 275-278

MIRZA J.H., KHAN S.M., BEGUM S., SHAGUFTA S. -1979- Mucorales of Pakistan. University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.): 95: 1-181

SAMSON R.A., HOEKSTRA E. VAN FRISVAD J.C., FILTENBORG O. -1996- Introduction to food-born fungi. Centralbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherland. 5th Ed. 322 pages

SCHIPPER M.A.A. -1990- Notes on Mucorales –I. Observations on *Absidia*. Persoonia 14: 133-148

SCHOLER H.J., MÜLLER E., SCHIPPER M.A.A. -1983- Mucorales. In D.H. Howard (Ed.): Fungi Pathogenic for Humans and animals. A: 9-59. Marcel Dekker, New-York.

ZYCHA H., SIEPMANN R., LINNEMANN G. -1969- Mucorales, ein Beschreibung aller Gattungen und Arten dieser Pilzgruppe. Cramer, Lehre, 355pages

Clinique

CHAVANET P., LEFRANC T., BONNIN A., WALDNER A., PORTIER H. -1990- Unusual cause of pharyngeal ulcerations in AIDS. Lancet 8711: 383-384

GEBHARD F., CHASTAGNER P., MAILLOT D., KURES L., GEORGES J.L., SCHMITT C., BORDIGONI P., SOMMELET D. -1995- Évolution favorable d'une mucormycose orbito-naso-sinusienne compliquant le traitement d'induction d'une leucémie aiguë lymphoblastique. Arch. Pédiatr. 2 :47-51

HOPWOOD V., HICKS D.A., THOMAS S., EVANS E.G.V. -1992- Primary cutaneous zygomycosis due to *Absidia corymbifera* in a patient with AIDS. J. Med. Vet. Mycol. 30: 399-402

JANTUNEN E., KOLHO E., RUUTU P., KOUKILA-KAHKOLA P., VIROLAINEN M., JUVONEN E., VOLIN L. -1996- Invasive cutaneous mucormycosis caused by *Absidia corymbifera* after allogenic bone marrow transplantation. Bone Marrow Transpl. 18: 229-230

JENSEN H.E. -1992- Murine subcutaneous granulomatous zygomycosis induced by *Absidia corymbifera*. Mycoses 35: 261-268

KAWASAKI H., YOSHIMURA K., KOHDERA U., HORIO T., TOYASAKI N., KOBAYASHI Y. -1996- Primary cutaneous zygomycosis due to *Absidia corymbifera* in a child with acute leukemia. Int. J. Clin. Oncol. 1 : 118-120

LEONG K.W., CROWLEY B., WHITE B., CROTTY G.M., O'BRIEN D.S., KEANE C., MCCANN S.R. - 1997- Cutaneous mucormycosis due to *Absidia corymbifera* occurring after bone marrow transplantation. Bone Marrow Transpl. 19: 513-515

LOPES J.O., PEREIRA D.V., STREHER L.A., FENALTE A.A., ALVES S.H., BENEVENGA J.P.-1995- Cutaneous zygomycosis caused by *Absidia corymbifera* in a leukemic patient. Mycopathologia 130: 89-92

MANSO E., MONTILLO M., FRONGIA G., CENTURIONI R., MURER B. -1994- Rhinocerebral mucormycosis caused by *Absidia corymbifera*: an unusual localization in a neutropenic patient. J. Mycol. Méd. 4 : 104-107

MARSHALL D.H., BROWNSTEIN S., JACKSON W.B., MINTSIOLIS G., GILBERG S.M., AL-ZEERAH B.F. -1997- Post-traumatic corneal mucormycosis caused by *Absidia corymbifera*. Ophthalmology 104: 1107-1111

PIENS M.A., DANNAOUI E., SAUZET E., CHOUVET B., MONIER M.F., PICOT S. -1999- Primary mucormycosis due to *Absidia corymbifera* in the absence of risk factors. J. Mycol. Méd. 9 : 230-232

SMITH A.G., BUSTAMANTE C.I., GILMOR G.D. -1989- Zygomycosis (Absidiomycosis) in an AIDS patient. Absidiomycosis in AIDS. Mycopathologia 105: 7-10

WOO PC, LAU SK, NGAN AH, TUNG ET, LEUNG SY, TO KK, CHENG VC, YUEN KY. - 2010 *Lichtheimia hongkongensis* sp. nov., a novel *Lichtheimia* spp. associated with rhinocerebral, gastrointestinal, and cutaneous mucormycosis. Diagn Microbiol Infect Dis.;66(3):274-84

3 - Echantillon RUPAS ou JOUART

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Geotrichum candidum* sur milieu Sabouraud chloramphénicol. Cette souche a été fournie par le Pr J.C. GANTIER (Faculté de Pharmacie, Chatenay Malabry).

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Souche isolée d'une coproculture chez un enfant de 2 ans et demi présentant une diarrhée importante.



photo 17. *Geotrichum* sur Sabouraud
Aspect macroscopique



photo 18. *Geotrichum* sur CHROMAgar
Aspect macroscopique

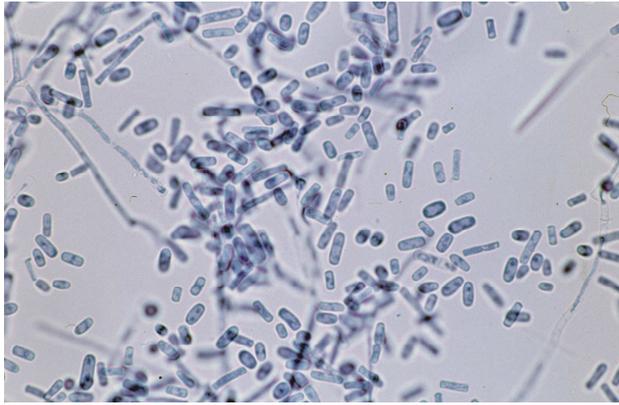


photo 19. *Geotrichum*
Aspect microscopique (Obj. X40)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1194 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XVI.

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

tableau XVI - Bilan des réponses des 1194 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Geotrichum candidum</i>	56,8 soit 65,2% des 1039 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Geotrichum sp.</i>	17,7 soit 20,3% des 1039 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Geotrichum klebhani (Trichosporon beigelii)</i>	3,7
<i>Geotrichum capitatum</i>	2,5
<i>Trichosporon sp.</i>	2,3
<i>Candida krusei</i>	2,0
Levures diverses	1,7
Dermatophytes ou filamenteux divers	0,4
Pas de réponse	0,4
Examen transmis	12,6

tableau XVII - Bilan des sept opérations de contrôle « *Geotrichum sp.* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% réponses			% « examen transmis » ou pas de réponse
		<i>Geotrichum</i>	« <i>Trichosporon sp.</i> »	Levures diverses	
2009	1194	80,7	2,3	3,7	13,0
1998	1307	89,5	2,4	2,2	5,1
1992	1039	85,3	5,7	2,9	5,4
1985	1020	72,2	12,0	8,0	7,3
1983	1046	55,0	11,0	27,0	6,8
1981	727	72,0	8,1	6,8	11,9
1980	698	71,4	13,6	5,4	7,3

Commentaires

Les souches RUPAS et JUART, isolées d'une coproculture chez un enfant de 2 ans présentant une diarrhée correspondaient à l'espèce *Geotrichum candidum*.

Plus de 80% des participants ont identifié correctement le genre *Geotrichum*, 2,3% ont identifié *Trichosporon sp.*, les autres réponses sont difficilement recevables.

Classification

Décrit en 1809 par Link, le genre *Geotrichum* a été totalement revu ces 20 dernières années, mais la nouvelle taxonomie ne fait pas encore l'unanimité.

Les *Geotrichum* font partie d'un complexe comprenant 5 genres : *Galactomyces*, *Dipodascus*, *Magnusiomyces*, *Saprochaete* et *Geotrichum* pour ceux dont le stade sexué n'est pas encore connu. En 1985, sur des critères de conidiogénèse, des auteurs ont considéré que *G. capitatum* faisait partie d'un nouveau genre : *Blastoschizomyces*, mais cette nouvelle classification n'est pas acceptée par tous.

Le complexe *Geotrichum* est actuellement composé de 23 espèces, mais seules 3 espèces : *G. candidum*, *G. capitatum* et *G. clavatum* ont été isolées chez l'homme.

Habitat

G. candidum est un champignon de répartition mondiale, retrouvé dans le sol, l'eau, les plantes et de nombreux substrats riches en nutriments tels les produits laitiers. Naturellement présent dans le lait cru, *G. candidum* est largement utilisé comme adjuvant lors de la fabrication de fromages. Il est fréquent d'isoler *G. candidum* de prélèvements digestifs humains, et l'on estime qu'un Français ingère de 0,8 à 80 milliards de cellules de *G. candidum* par an !

G. capitatum, lui aussi largement présent dans la nature, fait partie de la flore digestive humaine et peut être isolé de sites cutanés ou respiratoires.

G. clavatum est une espèce proche de *G. capitatum*.

Géotrichoses

Le rôle pathogène des *Geotrichum* dans la survenue d'infections superficielles n'est pas établi avec certitude. *Geotrichum* est bien plus souvent un simple colonisateur, notamment au niveau digestif.

Des infections localisées à *Geotrichum* sont observées après inoculation traumatique du champignon (kératite, péritonite, méningite, endocardite...).

Enfin, des infections disséminées sont observées chez des patients profondément immunodéprimés (neutropénie). Dans ce cas, il s'agit majoritairement de *G. capitatum*.

Identification du genre *Geotrichum*

- Aspect macroscopique sur milieu de Sabouraud :

Développement des colonies en 24-48h à une température d'incubation de 25°C à 35°C.

Certaines souches de *G. candidum* peuvent être inhibées à 37°C.

Colonies blanches, sèches, souvent duveteuses (photo 17).

Elles peuvent prendre différentes couleurs sur milieu chromogène (rose sur milieu CHROMAgar Candida® par exemple, photo 18).

- Aspect microscopique (photo 19)

Au microscope on observe des filaments hyalins, de nombreuses arthrospores, plus rarement des pseudofilaments. Des blastospores sont aussi parfois observées.

- Identification du genre *Geotrichum*

L'identification du genre est possible sur l'aspect macro- et microscopique des colonies, associée à la recherche d'une uréase ou à la réalisation d'un test d'assimilation des sources de carbone.

La recherche d'une activité uréasique en milieu urée-indole à 37°C est négative.

Les auxanogrammes commercialisés permettent généralement de différencier *G. candidum* et *G. capitatum* des autres *Geotrichum*. Cependant, les *Geotrichum sp.* assimilant peu de sucres, ces tests sont souvent peu discriminants.

Il faut savoir que *G. candidum* assimile le D-xylose et ne pousse pas à 40°C, contrairement à *G. capitatum* et *G. clavatum*.

En routine, l'identification de l'espèce de *Geotrichum* ne présente que peu d'intérêt pour des souches isolées de sites superficiels (selles, peau, respiratoire,...). Une souche isolée d'un prélèvement profond (hémoculture, biopsie...) sera préférentiellement transmise à un laboratoire spécialisé qui réalisera une identification génomique de l'espèce.

Diagnostic différentiel

- *Trichosporon spp.* (2,3% des réponses)

Les champignons du genre *Geotrichum* sont souvent confondus avec les levures basidiomycètes du genre *Trichosporon* qui produisent également des arthrospores.

Une recherche d'uréase (milieu urée-indole, 37°C, 2 4h) permet de les différencier : négative pour les *Geotrichum*, positive pour les *Trichosporon*.

L'absence de blastospore (conidie latérale) généralement observée chez les *Geotrichum* ne doit plus être utilisée comme critère de différenciation d'avec les *Trichosporon*, certains *Geotrichum* sont aussi capables de produire des blastoconidies.

- *Candida krusei* (2% des réponses)

L'aspect mat des colonies de *C. krusei*, ainsi que le faible nombre de sucres assimilés peuvent induire une confusion avec *Geotrichum*. Un simple examen microscopique de la colonie montrera des blastospores allongées s'il s'agit d'un *C. krusei*. Cette levure ne produit jamais d'arthrospores.

En résumé :

Colonies blanches à crème, souvent duveteuses

Présence d'arthrospores

Recherche d'uréase négative

Faible nombre de sucres assimilés

L'assimilation du D-Xylose permet de distinguer *G. candidum* de *G. capitatum*

Identification de l'espèce importante sur des prélèvements issus de sites profonds ou normalement stériles, réalisée par techniques génomiques

C. LACROIX, Hôpital Saint-Louis, Laboratoire de Parasitologie - Mycologie, Paris.

Bibliographie

Bouza, E., and P. Munoz. 2004. Invasive infections caused by *Blastoschizomyces capitatus* and *Scedosporium spp.* Clin Microbiol Infect. 10(S1):76-85.

de Hoog, G.S., M.T. Smith, and E. Gueho. 1986. A revision of the genus *Geotrichum* and its teleomorph. Studies in Mycology. 29:1-131

de Hoog, G.S., J. Guarro, J. Gené, and M.J. Figueras. 2000. Atlas of clinical fungi. 2th ed. Ceentralbureau voor Schimmelcultures, Utrecht / Universitat Rovira I Virgili, Reus.

de Hoog G.S., and M.T. Smith. 2004. Ribosomal gene phylogeny and species delimitation in *Geotrichum* and its teleomorphs. Stud Mycol. 50:489-515.

Firmesse, O., E. Alvaro, A. Mogenet, J.L. Bresson, R. Lemee, P. Le Ruyet, C. Bonhomme, D. Lambert, C. Andrieux, J. Dore, G. Corthier, J.P. Furet, and L. Rogottier Gois. 2008. Fate and effects of Camembert cheese micro-organisms in the human colonic microbiota of healthy volunteers after regular Camembert consumption. Int J Food Microbiol. 125:176-181.

- Gente, S., D. Sohier, E. Coton, C. Duhamel, and M. Gueguen. 2006. Identification of *Geotrichum candidum* at the species and strain level: proposal for a standardized protocol. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 33:1019-1031.
- Girmeria, C., L. Pagano, B. Martino, D. D'Antonio, R. Fanci, G. Specchia, L. Melillo, M. Buelli, G. Pizzarelli, M. Venditti, P. Martino, and the GIMEMA Infection Program. 2005. Invasive infections caused by *Trichosporon* species and *Geotrichum capitatum* in patients with hematological malignancies: a retrospective multicenter study from Italy and review of the literature. *J Clin Microbiol.* 43:1818-1828.
- Lacroix, C., and M. Feuilhade de Chauvin. 2005. Trichosporonosis and Geotrichosis. *EMC-Maladies infectieuses.* 2:97-104.
- Martino, R., M. Salavert, R. Parody, J.F. Tomas, R. de la Camara, L. Vasquez, I. Jarque, E. Prieto, J.L. Sastre, I. Gadea, J. Peman, and J. Sierra. 2004. *Blastoschizomyces capitatus* infection in patients with leukemia : report of 26 cases. *Clin Infect Dis.* 38:335-341.
- Pottier, I., S. Gente, J.P. Vernoux, and M. Gueguen. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: *Geotrichum candidum*. *Int J Food Microbiol.* 126:327-332.
- Salkin, I.F., M.A. Gordon, W.A. Samsonoff, and C.L. Rieder. 1985. *Blastoschizomyces capitatus*, a new combination. *Mycotaxon.* 22:375-380.
- Schiemann, R., A. Glasmacher, E. Bailly, R. Horre, E. Molitor, C. Leutner, M.T. Smith, R. Kleinschmidt, G. Marklein, and T. Sauerbruch. 1998. *Geotrichum capitatum* septicaemia in neutropenic patients: case report and review of the literature. *Mycoses.* 41:113-116.
- Smith, M.T., G.A. Poot, and A.W.A.M. de Cock. 2000. Re-examination of some species of the genus *Geotrichum* Link:Fr. *Antonie van Leeuwenhoek.* 77: 71-81.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2197 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0901-0902, 0903-0904, 0905-0906, 0907-0908, 0909-0910, 0911-0912 ont été proposés. Les échantillons étaient identiques deux à deux :

- 0901-0902 et 0909-0910 : présence d'IgG (taux moyen)
- 0903-0904 et 0911-0912 : présence d'IgG (taux moyen)
- 0905-0906 et 0907-0908 : absence d'IgG spécifiques

Aucun échantillon ne contenait d'IgM anti-toxoplasme.

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 $100 \times sTr / mTr$.

En ce qui concerne les techniques telles que l'immunofluorescence indirecte, l'hémagglutination ou le latex pour lesquelles il n'est pas possible d'appliquer directement les formules arithmétiques habituelles pour déterminer les moyennes et les écart-types, les résultats ont été convertis sous forme logarithmique de façon à obtenir une distribution normale et à pouvoir appliquer les formules classiques.

Résultats des participants

1 - Titrage des IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne le titrage des IgG anti-toxoplasme, 1862 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (75%), soit avec deux réactifs (25%).

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

Les conclusions (« négatif », « limite » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 0905-0906 et 0907-0908 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XIX.

Pour chacun des deux 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 rassemblés dans les tableaux XX et XXI.

Enfin, la dispersion des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques pour chacun des deux échantillons « IgG positifs » de cette opération de contrôle ainsi que pour les échantillons de titre proche d'opérations précédentes sont rapportées dans le tableau XXII.

tableau XVIII - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	1939 (83,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	642
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	474
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	154
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	140
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	100
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	99
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	85
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	60
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	58
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	29
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	23
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	22
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	20
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	18
SIEMENS "Immulite toxoplasmosse G"	11
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmosse IgG"	4
<u>LATEX :</u>	262 (11,3%)
FUMOUCHE "Toxolax"	189
BIORAD "Pastorex Toxo"	51
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	14
SERVIBIO "Servitex Toxo"	8
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	43 (1,9%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	34 (1,5%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	33
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	1
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	36 (1,5%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u>	1 (< 0,1%)
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	7 (0,3%)
Total	2322 (100%)

tableau XIX - Echantillons négatifs : 0905-0906 et 0907-0908

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	1262	162	18	30	22	2	1496
Limite	2	-	-	-	-	-	2
Total	1264	162	18	30	22	2	1498

tableau XX - Echantillons : 0901-0902 et 0909-0910

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	Total
Négatif	-	-	-	-	-	-	-	-
Limite	-	-	-	-	-	-	-	-
Positif	1306	178	28	25	25	1	6	1569
Total	1306	178	28	25	25	1	6	1569

Titres obtenus (UI/ml) pour les techniques non immunoenzymatiques :

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	23	23	27
m Tr	40,1	42,7	17,1
CV Tr (%)	17	25	17
intervalle 1 écart-type	21 - 75	17 - 110	10 - 28

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	430	419	46,3	5,3	11,4
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	308	297	18,3	2,8	15,2
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	100	94	420,0	22,6	5,4
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	95	93	55,3	6,2	11,2
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	79	77	54,9	6,4	11,6
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	75	72	77,8	2,8	15,2
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	49	48	11,9	0,9	7,8
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	46	44	41,7	3,2	7,8
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	37	36	32,5	4,2	12,8
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	20	19	426,5	18,8	4,4
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	17	16	71,6	20,1	28,1
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	16	15	61,9	6,3	10,3
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	13	12	35,8	4,4	12,2
Tous réactifs confondus *	1296	1176	41,2	20,6	50,0

* : 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 - Echantillons 0903-0904 et 0911-0912

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	Total
Négatif	1	-	-	-	-	-	-	1
Limite	-	-	-	-	-	-	-	-
Positif	1294	173	28	25	24	1	7	1552
Total	1295	173	28	25	24	1	7	1553

Titres (UI/ml) obtenus pour les techniques non immunoenzymatiques :

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	22	23	16
m Tr	86,2	90,8	40,9
CV Tr (%)	12	20	15
intervalle 1 écart-type	49 - 150	37 - 221	23 - 72

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	430	413	103,6	12,8	12,4
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	308	293	40,0	4,5	11,3
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	88	84	1177,0	185,5	15,8
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	91	88	133,5	13,3	9,9
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	79	77	134,5	17,0	12,7
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	74	71	197,0	6,5	3,3
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	47	45	27,4	1,9	6,9
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	46	43	112,1	15,0	13,4
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	37	35	63,4	10,4	16,4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	15	13	1232,6	88,7	7,2
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	18	17	161,2	39,7	24,6
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	16	16	138,5	19,4	14,0
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	13	12	75,5	8,9	11,9
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1274</i>	<i>1177</i>	<i>97,1</i>	<i>62,0</i>	<i>63,9</i>

* : 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 - Technique immunoenzymatique : dispersion des titres des deux échantillons positifs
 Comparaison avec des échantillons de titre proche des opérations précédentes

Echantillons	Opération	Année	Titres (UI/ml)	
			le plus faible	le plus élevé
Titre autour de 90 UI/ml :				
0903-0904-0911-0912	09PAR1	2009	27,4 ^(a)	1232,6 ^(c)
0703-0704-0711-0712	07PAR1	2007	40,1 ^(b)	1107,1 ^(e)
1795-1995-2095	00PAR1	2000	32	151
6094-6194	99PAR1	1999	38	208
Titre autour de 40 UI/ml :				
0901-0902-0909-0910	09PAR1	2009	11,9 ^(a)	426,5 ^(c)
0807-0808-0811-0812	08PAR1	2008	19,8 ^(b)	427,7 ^(d)
0423-0424	04PAR2	2004	23,2 ^(b)	137,7 ^(e)

(a) : titre moyen obtenu avec "ABBOTT Architect Toxo IgG", (b) : titre moyen obtenu avec "ABBOTT "AXSYM Toxo IgG", (c) : titre moyen obtenu avec ROCHE "Cobas Core Toxo G ", (d) : titre moyen obtenu avec SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur", (e) : titre moyen obtenu avec ROCHE "Elecys/modular Toxo G ".

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 1859 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (91,7%), soit avec deux réactifs (8,3%).

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

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

tableau XXIII - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</u>	1914 (95,1%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	646
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	482
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	157
ROCHE "Elecys/modular Toxo M"	140
SIEMENS "ToxoM/ADVIA Centaur"	99
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	98
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	62
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgM"	60
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasme M"	57
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	30
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	22
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	21
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	17
SIEMENS "Immulite toxoplasme M"	13
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	7
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasme IgM"	3
<u>LATEX :</u>	40 (2,0%)
FUMOUCHE "Toxolax"	27
BIORAD "Pastorex Toxo"	13

HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.): FUMOUCHE "Toxo-HAI"	22 (1,1%)
IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI): BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	18 (0,9%)
ISAGA : BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	14 (0,7%)
REACTIF autre ou non précisé (NP) :	5 (0,2%)
Total	203 (100%)

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

Echantillons 0901-0902 et 0909-0910

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1287	12	10	14	10	5	1338
Limite	-	-	-	-	-	-	-
Positif	1	-	-	-	5	-	6
Total	1288	12	10	14	15	5	1344

Echantillons 0903-0904 et 0911-0912

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1272	12	11	14	10	5	1324
Limite	1						1
Positif	2				5		7
Total	1275	12	11	14	15	5	1332

Echantillons 0905-0906 et 0907-0908

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Total
Négatif	1243	20	6	8	29	1306
Limite	-	-	-	-	-	-
Positif	-	-	-	-	-	-
Total	1243	20	6	8	29	1306

3 - Cas clinique

Le cas clinique suivant : « prélèvement d'un donneur dont les organes doivent être greffés sur un patient de sérologie négative pour la toxoplasmose ».

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 « ...sur la présence ou l'absence d'anticorps et sur l'ancienneté probable de l'infection en cas de positivité... ».

Six conclusions étaient proposées au choix du biologiste qui pouvait les associer par deux (tableau XXV). Les conclusions apportées pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif » ainsi que pour l'échantillon « IgG et IgM négatifs » sont détaillées dans le tableau XXVI.

tableau XXV - Conclusions au choix

CODE	Conclusions
TOX A	Absence d'anticorps. Absence d'immunité.
TOX B	Taux limite. Patient à considérer comme non immunisé.
TOX C	Immunité ancienne probable.
TOX D	Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose récente.
TOX E	Discordance entre deux techniques. Une nouvelle sérologie est nécessaire pour conclure.
TOX I	A confirmer par une nouvelle sérologie.

tableau XXVI - Conclusions des biologistes

Echantillon	0901 - 0902 0909 - 0910	0903 - 0904 0911- 0912	0905 - 0906 0907 - 0908
IgG	positif	positif	négatif
Titre moyen IgG (UI/ml)	41,2	97,1	0
Effectif	1211	1216	1189
Conclusion (%) :			
TOX A "absence d'anticorps. Absence d'immunité"	-	-	77,1
TOX C "immunité ancienne probable"	43,4	42,6	-
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	3,0	3,0	0,4
TOX C + TOX I	53,0	53,5	-
TOX A + TOX I			22,3
Autres conclusions	0,6	0,9	0,2

Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, l'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0905-0906 et 0907-0908 montre l'absence de conclusions faussement positives (tableau XIX).

En ce qui concerne les deux échantillons positifs en IgG, on note un unique faux négatif pour l'échantillon 0903-0904 (tableau XXI). D'autre part, l'étude des titres obtenus pour les deux échantillons « IgG positifs » montre une dispersion importante des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques, en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI/ml les IgG anti-toxoplasme (tableau XXII). Pour un même échantillon, le rapport entre le titre le plus élevé et le titre le plus faible, obtenus respectivement avec les réactifs ROCHE Cobas Core Toxo G et ABBOTT Architect Toxo IgG, varie de 36 à 45 selon l'échantillon considéré.

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, aucun des trois pools de plasmas utilisés pour la préparation des échantillons de cette opération de contrôle ne contenait d'IgM anti-*Toxoplasma gondii*.

Si l'on considère de façon globale les résultats des 3982 tests réalisés par l'ensemble des 1859 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 13 (0,33%) conclusions incorrectes « positif » (tableau XXIV). Six laboratoires ont rendu les deux échantillons testés faussement « positif » et un laboratoire a rendu un seul échantillon « positif » sur les deux testés. Les réactifs correspondants aux 13 faux positifs sont par ordre de fréquence décroissant : FUMOUE Toxolates (10), BIOMERIEUX Vidas compétition (2), SIEMENS Immulite 2000 (1). Il faut noter que les latex (« Toxolates », « Pastorex Toxo » et « Serviex Toxo ») sont des tests de détection des anticorps totaux (IgG + IgM) anti-toxoplasme. Par conséquent, les laboratoires participants ne doivent pas reporter sur le bordereau réponse, au niveau de la recherche des IgM anti-toxoplasme, le résultat obtenu avec un latex qui par définition n'est pas spécifique des IgM.

Le pourcentage de laboratoires ayant apporté une conclusion globale, interprétée à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM anti-toxoplasme et du cas clinique « prélèvement d'un donneur dont les organes doivent être greffés sur un patient de sérologie négative pour la toxoplasmose » est de 97,2% (+0,3% par rapport à l'opération précédente 08PAR1).

Sur les 1189 laboratoires concernés par les échantillons « IgG et IgM négatifs », on note que 77,1% ont rendu la conclusion attendue : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » (TOX A) et 22,3% ont rendu une conclusion très proche, également considérée comme acceptable : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX A + TOX I). Soit, un total de 99,4% de conclusions correctes.

Pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue : « Immunité ancienne probable » (TOX C) ou bien « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX C + TOX I) a été rendue par 96,3% des laboratoires. On n'observe pas de lien entre le titre moyen en IgG de l'échantillon et le pourcentage d'interprétations correctes (tableau XXVI).