

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin
Coprologie parasitaire
Mycologie : identification et antifongogramme
Sérologie de la toxoplasmose

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

Expédition : 27 octobre 2010

Clôture : 22 novembre 2010

Edition des compte-rendus individuels : 04 mars 2011

Paramètres contrôlés :

Frottis sanguin : sang non parasité, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*

Coprologie : *Hymenolepis nana*, selle non parasitée, *Entamoeba histolytica* / *E. dispar*

Mycologie (identification et antifongigramme) : *Candida glabrata*

Sérologie de la toxoplasmose

Nombre de laboratoires concernés* : 3751

Nombre de laboratoires participants** : 3628

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

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

Résumé de l'opération

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

Sur le frottis non parasité, un pourcentage non négligeable (près de 15%) de participants ont vu un *Plasmodium*. En ce qui concerne le frottis parasité par *P. falciparum*, on note 94,5% de diagnostics d'espèce corrects, ce qui est le meilleur score obtenu pour un frottis de cette richesse (0,6% d'hématies parasitées par des trophozoïtes) par rapport aux opérations précédentes. Quant à *P. ovale*, le frottis ne comportait que des trophozoïtes et de très rares gamétocytes. En dépit d'une parasitémie faible (0,1%) et de l'absence de schizontes, ce parasite a été correctement identifié par 83% des laboratoires ayant rendu un diagnostic.

La coprologie parasitaire comportait pour la première fois une selle normale, non parasitée, non chargée en pollen. Plus d'un laboratoire sur cinq a identifié, à tort, un parasite (protozoaire : 17%, helminthe : 5%). En ce qui concerne les deux autres échantillons de selles, près de la moitié des participants ont confondu les kystes d'*Entamoeba histolytica* / *E. dispar* avec les kystes d'autres protozoaires, en particulier *Entamoeba coli* ; ce qui est un problème récurrent pour lequel on n'observe aucune amélioration dans le temps. En revanche, on note pour les œufs d'*Hymenolepis nana*, un pourcentage de diagnostics corrects (70%) proche de celui obtenu lors de l'opération de contrôle précédente.

Une levure, *Candida glabrata* résistante aux fluconazole, itraconazole et voriconazole, était également proposée pour identification et antifongigramme. Parmi les 2551 laboratoires ayant étudié cette souche, 96% l'ont correctement identifiée et près des deux tiers ont complété l'analyse par un antifongigramme. La résistance aux trois dérivés azolés a été détectée par respectivement 82%, 93% et 81% des participants.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, 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 parmi les six proposés. Comme à chaque opération de contrôle, on note une dispersion importante des titres obtenus en IgG anti-toxoplasme selon le réactif immunoenzymatique utilisé. Ainsi, pour un même échantillon, le rapport entre le titre le plus élevé (obtenu avec l'automate Elecsys/modular de ROCHE) et le titre le plus faible (obtenu avec l'automate Architect d'ABBOTT) varie de 26 à 30 selon l'échantillon considéré.

Frottis sanguin

1 - Echantillon DOMECH ou KETZ

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 : Absence de parasite sanguin.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : fièvre et thrombopénie chez un patient, une semaine après son retour d'un séjour de 4 semaines en Côte d'Ivoire sans prophylaxie antipalustre.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1116 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

tableau I - Ensemble des réponses des 1116 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèces
Absence de parasite		71,3 (soit 84,7% des 940 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>	6,2
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>	2,5
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>	2,4
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>	1,5
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>	0,3
Leishmania sp.		< 0,1
« Frottis mal coloré. Illisible »		2,0
PAS DE REPONSE		0,8
EXAMEN TRANSMIS		13,0

Commentaires

Ce frottis négatif a été réalisé dans un contexte d'épidémie de Dengue en zone d'endémie. Le diagnostic différentiel avec un accès palustre se fait sur l'absence d'hématozoaires au frottis et des examens spécifiques positifs. Le risque de dengue ne doit pas être méconnu pour orienter le clinicien sur un diagnostic différentiel. La dengue est présente dans la plupart des pays tropicaux. Le virus de la dengue est un arbovirus (Flavivirus, famille des Flaviviridae) dont il existe quatre sérotypes distincts. La transmission se fait d'homme à homme par l'intermédiaire de moustiques du genre *Aedes*. La maladie est endémique dans plus de 100 pays et les deux-cinquièmes de la population mondiale sont exposés (figure 1) : la zone d'endémie de la dengue recouvre en partie la zone d'endémie du paludisme. Depuis une trentaine d'années, on observe une extension importante de la répartition géographique et du nombre de cas annuels de dengue.

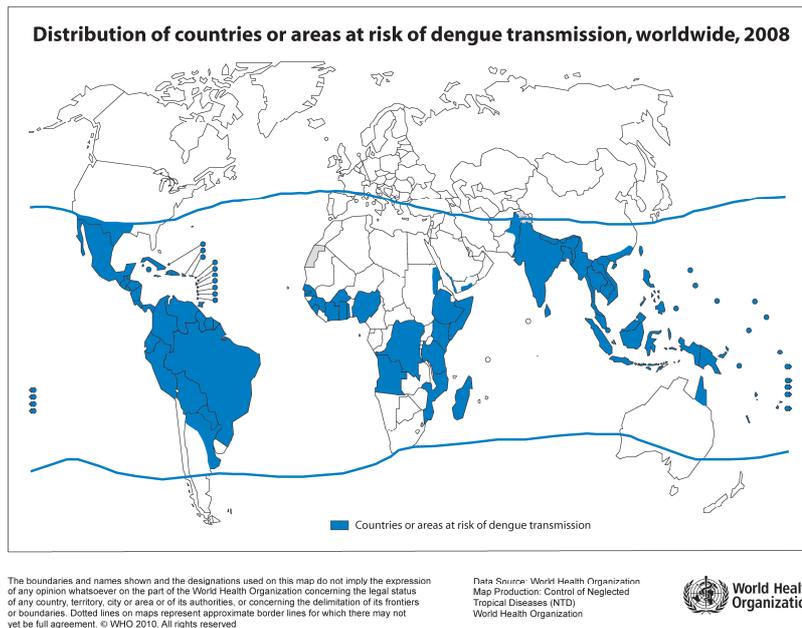


figure 1 - distribution mondiale des zones et des pays à risque de transmission de la dengue, 2008 (OMS)

La période d'incubation est généralement de 4 à 7 jours (extrême 2-15 jours). Les symptômes associent une fièvre élevée de début brutal et des symptômes non spécifiques tels que des céphalées frontales, des douleurs rétro-orbitaires, des douleurs musculo-articulaires, une asthénie, des signes digestifs. Les manifestations hémorragiques limitées ne sont pas rares avec une thrombocytopenie et des signes d'hémoconcentration associés.

Il n'y a pas de vaccin contre la dengue et le traitement est uniquement symptomatique. L'évolution est spontanée vers la guérison sans séquelles dans la majorité des cas. La létalité des cas de dengue hémorragique est en moyenne de 2,5%.

Des cas autochtones sont possibles.

Le diagnostic biologique est indispensable : il repose sur un sérodiagnostic, une amplification génique, la mise en évidence de l'antigène NS1, plus rarement par isolement viral.

2 - Echantillons POIRET ou SOREL

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 : 0,6% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : fièvre et thrombopénie chez un patient, une semaine après son retour d'un séjour de 4 semaines en Côte d'Ivoire sans prophylaxie antipalustre.

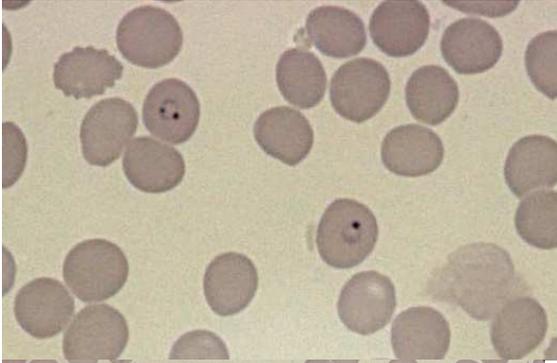


Photo 1 : *P. falciparum* (MGG, X1000)

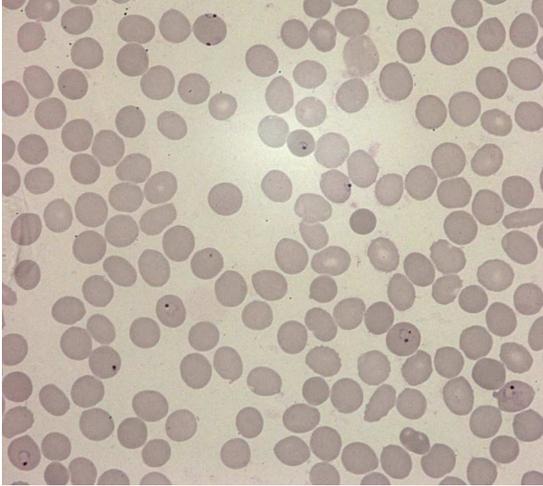


Photo 2 : *P. falciparum* (MGG, X500)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1144 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau II.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des quatre envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P.falciparum* d'une richesse comparable (entre 0,1 et 1%) et comportant uniquement le stade « trophozoïte » sont rapportés dans le tableau III.

tableau II - Ensemble des réponses des 1144 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	82,2	85,4 (soit 94,5% des 1034 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Schizontes jeunes		6,1	
Schizontes âgés		2,2	
Gamétocytes		0,9	
divers/non précisés		0,3	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		4,2
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		1,8
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		1,6
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			< 0,1
« Frottis mal coloré. Illisible »			< 0,1
PAS DE REPONSE			0,3
EXAMEN TRANSMIS			9,3

tableau III - Bilan des cinq 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
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

Les parasites intra-érythrocytaires observés sur le frottis 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 en anneau, 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.

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

La parasitémie relativement importante facilite le diagnostic : on observe 1 hématie parasitée par champ ou tous les 2 champs selon le nombre d'hématies observées.

Sur 1034 laboratoires ayant rendu un diagnostic, on note 94,5% de diagnostics d'espèce corrects. Par rapport aux opérations précédentes, c'est le meilleur score obtenu pour un frottis de cette richesse.

3 - Echantillons VIGOT ou BURDES

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 :

Nom du parasite : *Plasmodium ovale*

Stade : trophozoïtes + gamétocytes

Richesse du frottis : trophozoïtes: 0,12% hématies parasitées / gamétocytes: 0,02% hématies parasitées

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : fièvre et thrombopénie chez un patient, une semaine après son retour d'un séjour de 4 semaines en Côte d'Ivoire sans prophylaxie antipalustre.

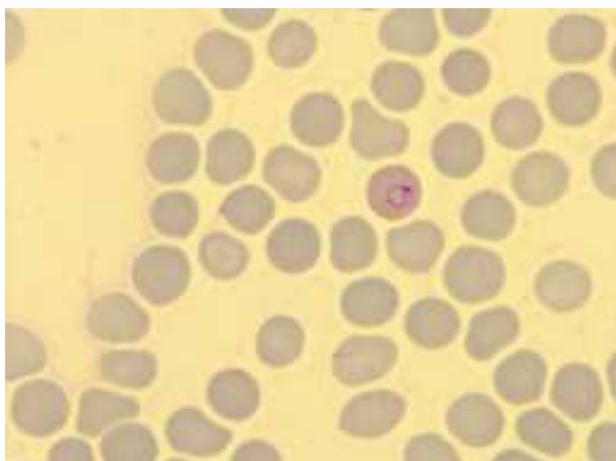


Photo 3 : *Plasmodium ovale*
Trophozoïte trapus et volumineux (Giemsa rapide X1000).

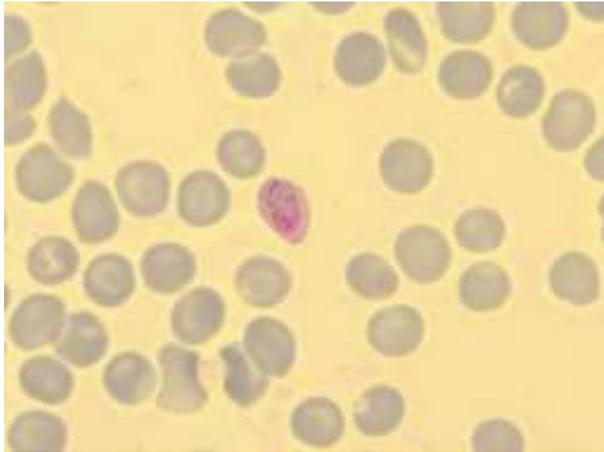


Photo 4 : *Plasmodium ovale*
Gamétoocyte n'occupant pas la totalité du cytoplasme de l'hématie (Giemsa rapide X1000).

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1126 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau IV.

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

tableau IV - Ensemble des réponses des 1126 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	65,8	74,2 (soit 82,9% des 1009 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Schizontes jeunes		27,1	
Schizontes âgés		21,8	
Gamétoocytes		33,2	
divers/non précisés		0,8	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	5,8	7,2
Schizontes jeunes		2,0	
Schizontes âgés		1,8	
Gamétoocytes		1,9	
divers/non précisés		< 0,1	
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	4,2	5,8
Schizontes jeunes		0,9	
Schizontes âgés		1,3	
Gamétoocytes		1,0	
divers/non précisés		0,2	
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		1,9
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			0,4
« Frottis mal coloré. Illisible »			0,5
PAS DE REPONSE			0,3
EXAMEN TRANSMIS			10,1

tableau V - Bilan des cinq 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
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

Les hématies parasitées sont de grande taille. On note la présence de granulations de Schüffner. Ces éléments orientent vers un diagnostic d'espèce de *Plasmodium ovale* ou *Plasmodium vivax*. Le diagnostic différentiel entre ces deux espèces est souvent difficile. Il repose sur un faisceau d'arguments après examen d'un nombre conséquent d'hématies parasitées. Sur le frottis adressé, on observe deux stades parasitaires : des trophozoïtes (photo 3) et des gamétocytes (photo 4). La forme ovalaire de certaines hématies parasitées est un premier élément d'orientation en faveur de *P. ovale*. La taille (environ 1/3 de l'hématie) et l'aspect compact des trophozoïtes (pas de cytoplasme « amoéboïde ») orientent également le microscopiste vers un diagnostic de *P. ovale*.

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon DIALO ou KOULIBA

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 : *Hymenolepis nana*

Stade : œufs

Richesse de la selle : 3 œufs par lamelle 22X22

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : bilan systématique chez une personne travaillant dans l'humanitaire depuis 2 ans qui se rend régulièrement en Afghanistan.

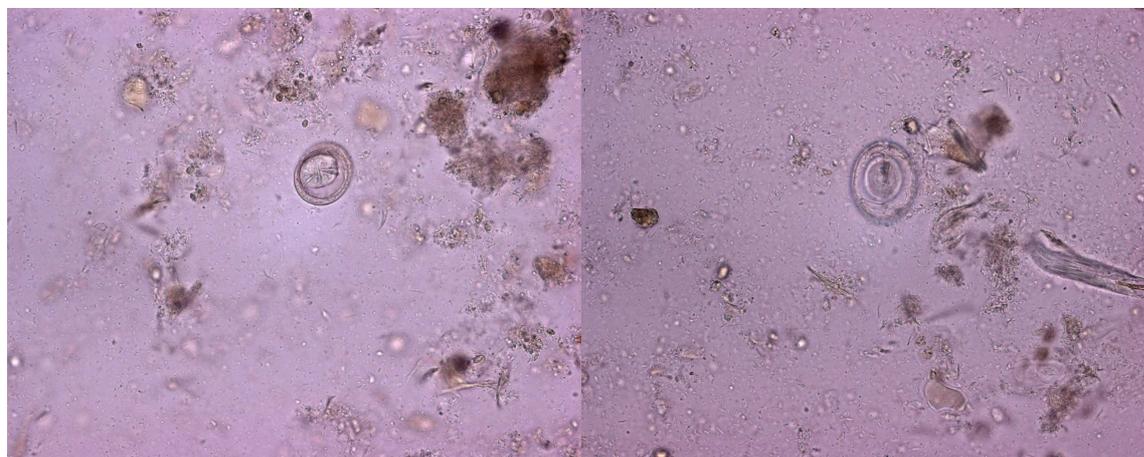


Photo 5 : œuf *H. nana* (état frais, X40)

Photo 6 : œuf *H. nana* (état frais, X40)

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 deux envois précédents d'une selle contenant des œufs d'*Hymenolepis nana* 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>Hymenolepis nana</i>	53,9	58,9 (soit 70,1% des 937 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Stades divers/non précisés		5,0	
Stades divers/non précisés	<i>Hymenolepis diminuta</i>		3,3
Stades divers/non précisés	<i>Endolimax nanus</i>		3,7
Stades divers/non précisés	<i>Taenia sp.</i>		2,7
Stades divers/non précisés	<i>Strongyloides stercoralis</i>		1,8
Absence de parasite			12,3
Protozoaires divers			3,3
Helminthes divers			1,8
PAS DE REPONSE			0,2
EXAMEN TRANSMIS			15,9

tableau VII - Bilan des trois opérations de contrôle « *Hymenolepis nana* »

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle *	% « <i>H. nana</i> »	% « <i>H. diminuta</i> »	% « <i>Taenia</i> »	% « <i>Ascaris</i> »	% «absence de parasite»	% « transmis » ou absence de réponse
2010	1196	3	58,9	3,3	2,7	0	12,3	16,1
1999	1323	2 - 8	69,2	2,5	3,9	2,0	12,2	4,3
1993	1138	1 - 5	72,6	5,6	5,7	2,4	6,2	1,7

* : nombre d'œufs par lamelle 22X22

Commentaires

Hymenolepis nana est un ver intestinal de la classe des Cestodes (vers plats segmentés), de petite taille (1,5 à 4 cm de long sur 0,5 à 1 mm de large), de la famille des Hymenolepididés. C'est un parasite cosmopolite mais plus fréquent dans les régions chaudes (Amérique latine, bassin méditerranéen). C'est un ténia avec un scolex portant une couronne de crochets et 4 ventouses et des anneaux qui se détachent à maturité. Les œufs sont libérés par digestion des anneaux et éliminés dans les selles. La contamination peut être directe par l'intermédiaire des mains sales, des aliments souillés par les anneaux ou indirecte par ingestion d'un hôte intermédiaire, un insecte (larve de Ténébrion meunier, ou ver de farine). L'infestation est souvent asymptomatique ou provoque des troubles digestifs (diarrhées, amaigrissement) ou des troubles généraux (céphalées, irritabilité).

Le diagnostic est porté par la mise en évidence des œufs dans les selles (à partir du 20^{ème} jour après la contamination). Les œufs sont ovales, réguliers, de taille 30 µm sur 40-50 µm. Ils présentent une coque externe mince, lisse et incolore et une coque interne (20 µm X 30 µm) de forme ovalaire avec 2 mamelons diamétralement opposés d'où partent 4 ou 5 filaments flexueux (photo 6). L'œuf contient un embryon hexacanthé (photo 5).

2 - Echantillon PRAT ou SIMIER

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle formolée.

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : bilan systématique chez une personne travaillant dans l'humanitaire depuis 2 ans qui se rend régulièrement en Afghanistan.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1135 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VIII.

tableau VIII - Ensemble des réponses des 1135 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèce
Absence de parasite		64,0 (soit 74,5% des 925 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Stades divers/non précisés	<i>Chilomastix mesnili</i>	4,4
Stades divers/non précisés	<i>Endolimax nanus</i>	2,6
Stades divers/non précisés	<i>Entamoeba hartmanni</i>	1,9
Stades divers/non précisés	<i>Ascaris lumbricoides</i>	1,4
Protozoaires divers		4,9
Helminthes divers		2,7
PAS DE REPONSE		1,2
EXAMEN TRANSMIS		17,3

Commentaires

La coprologie parasitaire comportait pour la première fois une selle normale, non parasitée, non chargée en pollen. Plus d'un laboratoire sur cinq a identifié, à tort, au moins un parasite sur cette selle. Ce résultat est encore plus mauvais que celui obtenu en 2007 sur une selle non parasitée mais très chargée en pollen dit « diététique », pour laquelle près de 13% des participants avait confondu les grains de pollen avec un kyste ou le plus souvent avec un œuf d'Ascaris.

3 - Echantillon VONZA ou BARONI

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 : *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*

Stade : kystes

Richesse de la selle : un kyste tous les 2 champs (Obj. X 40).

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : bilan systématique chez une personne travaillant dans l'humanitaire depuis 2 ans qui se rend régulièrement en Afghanistan.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1134 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau IX.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'une selle contenant uniquement des kystes d'*Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* sont rapportés dans le tableau X.

tableau IX - Ensemble des réponses des 1134 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèces
divers/non précisés	<i>Entamoeba histolytica</i> ou <i>E. dispar</i>	16,8 soit 19,8% des 960 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
divers/non précisés	<i>E. histolytica</i>	15,2 soit 17,9% des 960 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
divers/non précisés	<i>E. dispar</i>	1,9 soit 7,4% des 960 laboratoires ayant rendu un diagnostic
divers/non précisés	<i>Entamoeba coli</i>	30,3
divers/non précisés	<i>Endolimax nanus</i>	5,6
divers/non précisés	<i>Dientamoeba fragilis</i>	4,5
divers/non précisés	<i>Entamoeba hartmanni</i>	3,1
divers/non précisés	<i>Entamoeba polecki</i>	2,4
Protozoaires divers		2,9
Helminthes divers		0,5
Absence de parasite		2,5
PAS DE REPONSE		0,2
EXAMEN TRANSMIS		15,1

tableau X - Bilan des six opérations de contrôle « Kystes d'*E. histolytica* / *E. dispar* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :			% « transmis » ou absence de réponse
			« <i>E. histolytica</i> /« <i>E. dispar</i> » ou « <i>E. histolytica</i> » ou « <i>E. dispar</i> »	« <i>Entamoeba coli</i> »	« absence de parasite »	
2010	1134	2	33,9	30,3	2,5	15,3
2006	1218	1 - 2	50,4	45,0	1,1	3,4
1997	1217	1 - 3	29,3	39,8	11,2	3,7
1994	1188	2 - 5	33,7	32,2	4,1	2,5
1989	1152	2 - 10	52	24,6	4,9	9,3
1980	1420	1 - 5	60,9	29,2	0,7	0,4

* : nombre de champs au X40 pour trouver un kyste

Commentaires

Dans l'échantillon de selles « VONZA » ou « BARONI », on observe la présence de kystes à 4 noyaux. Leur taille est comprise entre 12 et 15 µm. Les noyaux de type « *Entamoeba* » sont constitués par une membrane périphérique tapissée d'une couche de chromatine, et pourvus d'un caryosome petit, central ou excentré. En l'absence de formes végétatives hématophages, la seule réponse acceptable à ce stade du diagnostic est : « Présence de kystes d'*Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar* ». Le diagnostic d'espèce est obtenu par la recherche sur l'échantillon de selles (sans passer par l'étape de culture) d'ADN ou d'antigènes spécifiques de chacune des 2 espèces. Seule l'espèce *E. histolytica* considérée comme pathogène doit faire l'objet d'un traitement médicamenteux.

Mycologie

Echantillon DERHY, KISMA, PELAN, SASTRE, VALVIN ou BETHAN

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Candida glabrata* sur milieu Sabouraud chloramphénicol. Cette souche a été fournie par le Pr J.C. GANTIER (Faculté de Pharmacie, Chatenay Malabry). Cette souche est la même que celle qui avait été utilisée lors de l'opération de contrôle précédente en 2004.

Les résultats de l'antifongigramme réalisé par le CNR Mycologie et antifongiques, selon la méthode EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) sont reportés dans le tableau ci-dessous.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : levure isolée d'une hémoculture après 3 semaines de traitement prophylactique par le fluconazole à 400 mg/j chez un patient allogreffé de moelle osseuse porteur d'un cathéter veineux central.

Antifongiques	CMI (mg/l) **	Interprétation de la CMI
Amphotéricine B (AMB)	0,25	S
5 - Fluorocytosine (5FC)	≤ 0,125	S
Fluconazole (FCZ)	> 64	R
Itraconazole (ITZ)	> 8	R
Voriconazole (VRZ)	> 8	R

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

Identification : Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 3388 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XI.

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

Tableau XI - Bilan des réponses des 3388 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Candida glabrata</i>	72,4 Soit 96,2 % des 2551 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Candida krusei</i>	0,5
<i>Candida non albicans</i>	0,4
<i>Candida sp.</i>	0,3
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0,3
<i>Torulopsis famata</i>	0,3
<i>Cryptococcus sp.</i>	0,2
Autres levures	0,9
Pas de réponse	1,1
Examen transmis	23,6

tableau XII - Bilan des neuf opérations de contrôle « *Candida glabrata* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de bonnes réponses « <i>Candida glabrata</i> »	deuxième réponse (%)	% « transmis » ou absence de réponse
2010	3388	72,4	<i>C. krusei</i> (0,5)	24,7
2004	3761	85,5	<i>C. krusei</i> (0,9)	9,7
2003	1270	88,1	<i>C. krusei</i> (0,9)	4,9
1997	1423	85,1	<i>C. krusei</i> (5,6)	3,8
1993	1034	82,7	<i>C. krusei</i> (2,9)	5,0
1988	1166	72,4	<i>Torulopsis sp.</i> (1,1)	6,0
1984	1137	74,7	<i>C. krusei</i> (4,7)	8,3
1980	694	73,6	<i>C. tropicalis</i> (6,4)	5,3
1980	747	58,4	<i>C. tropicalis</i> (13,7)	NC

Identification : Commentaires

Entre 2004 (année de l'opération de contrôle précédente portant sur l'identification et l'antifongogramme de *C. glabrata*) et 2010, on note une diminution d'un tiers du nombre de laboratoires susceptibles de réaliser l'identification d'une levure (3394 laboratoires en 2004 versus 2251 laboratoires en 2010).

Avec 96,2% de diagnostics corrects, les résultats sont très bons. La confusion avec *C. krusei* devient anecdotique et ne concerne plus que 16 laboratoires.

Candida glabrata pousse facilement sur Sabouraud chloramphénicol sous la forme de colonies blanches, brillantes et lisses. Sur ce milieu de culture ou sur milieu RAT, on observe exclusivement des levures ovoïdes de petite taille (3-6 µm X 2-3 µm), à bourgeonnement multipolaire.

Cette espèce ne pousse pas sur Actidione. En plus du glucose, elle n'assimile et ne fermente que le tréhalose. Deux caractères biochimiques complémentaires peuvent être utilisés pour l'identifier : l'absence d'uréase et la réduction des sels de tétrazolium positive donnant une coloration rose très nette des colonies en 48 heures.

Candida krusei est également sensible à l'actidione. En revanche, les colonies sont mates. De plus, cette espèce n'utilise pas le tréhalose et ne réduit pas les sels de tétrazolium.

Antifongogramme : Résultats des participants

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

Pour chaque antifongique testé, les laboratoires qui réalisent cette analyse en routine pouvaient préciser la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Les différentes combinaisons d'antifongiques testées par les 1638 laboratoires participants sont détaillées dans le tableau XIII.

Les résultats globaux de l'antifongogramme obtenus pour cette souche en 2010 et 2004 sont présentés dans le tableau XIV, complété par le tableau XV qui reprend en détail les réponses obtenues en 2010 pour chaque antifongique en fonction du réactif employé.

En ce qui concerne les CMI des différents antifongiques, leurs distributions en fonction du réactif utilisé sont représentées figure 2.

tableau XIII - Bilan des différentes combinaisons d'antifongiques testées par les laboratoires participants

Amphotéricine B	5-Fluorocytosine	Fluconazole	Itraconazole	Voriconazole	effectif
▪	▪	▪	▪	▪	742
▪	▪	▪		▪	385
▪	▪	▪			234

▪	▪	▪	▪	144
▪				37
▪		▪		31
▪	▪			24
▪		▪		18
▪		▪	▪	9
		▪		4
		▪	▪	2
		▪		2
	▪	▪		1
▪			▪	1
▪		▪	▪	1
▪	▪			1
▪	▪		▪	1
▪	▪		▪	1

tableau XIV - Réponses tous réactifs confondus en 2010 et en 2004

	Réponse attendue	effectif		S (%)		I (%)		R (%)	
		2010	2004	2010	2004	2010	2004	2010	2004
Amphotéricine B	S	1621	2575	82,7	97,1	11,5	0,7	5,8	2,2
5 - Fluorocytosine	S	1533	2350	96,7	96,6	0,6	0,5	2,7	2,9
Fluconazole	R	1572	2253	3,9	8,2	14,3	10,0	81,8	81,8
Itraconazole	R	899	1831	2,9	6,2	4,0	2,9	93,1	90,9
Voriconazole *	R	1171	-	10,8	-	7,8	-	81,4	-

* : non testé en 2004

tableau XV - Détail des réponses pour chaque antifongique en fonction du réactif utilisé

Amphotéricine B

Réactif	I	%	R	%	S	%	effectif
ATB fungus 3 BIOMERIEUX	3	0,5	23	3,7	595	95,8	621
Vitek 2 BIOMERIEUX	169	42,9	22	5,6	203	51,5	394
Candifast ELITECH	2	1,0	32	16,5	160	82,5	194
Fungitest BIORAD	3	2,1	4	2,8	136	95,1	143
disques BIORAD	1	1,4	3	4,2	68	94,4	72
E test BIOMERIEUX	1	1,7			57	98,3	58
Candifast ES TWIN ELITECH			8	22,2	28	77,8	36
Fungifast ELITECH	3	11,1			24	88,9	27
Mycodisk SOBIODA	1	4,0	3	12,0	21	84,0	25
Fungifast AFG ELITECH					16	100,0	16
Neosensitabs ROSCO	1	14,3			6	85,7	7
YeastOne Sensititre BIOCENTRICS					7	100,0	7
CMI liquide CLSI/EUCAST					1	100,0	1
non précisé	2	10,0			18	90,0	20
Total	186	11,5	95	5,8	1340	82,7	1621

5 - Fluorocytosine

Réactif	I	%	R	%	S	%	effectif
ATB fungus 3 BIOMERIEUX	3	0,5	1	0,2	612	99,4	616
Vitek 2 BIOMERIEUX	2	0,5			386	99,5	388
Candifast ELITECH			13	6,8	178	93,2	191
Fungitest BIORAD	1	0,7	3	2,1	139	97,2	143
E test BIOMERIEUX			1	2,6	38	97,4	39
disques BIORAD			11	28,9	27	71,1	38
Candifast ES TWIN ELITECH			4	11,1	32	88,9	36
Fungifast ELITECH			2	7,7	24	92,3	26
Fungifast AFG ELITECH	1	6,3			15	93,8	16
Neosensitabs ROSCO	1	14,3	4	57,1	2	28,6	7
YeastOne Sensititre BIOCENTRICS					7	100,0	7
Mycodisk SOBIODA			1	33,3	2	66,7	3
CMI liquide CLSI/EUCAST					1	100,0	1
non précisé	1	4,5	1	4,5	20	90,9	22
Total	9	0,6	41	2,7	1483	96,7	1533

Fluconazole

Réactif	I	%	R	%	S	%	effectif
ATB fungus 3 BIOMERIEUX	96	15,5	511	82,4	13	2,1	620
Vitek 2 BIOMERIEUX	112	28,4	277	70,3	5	1,3	394
Candifast ELITECH	2	1,0	165	85,5	26	13,5	193
Fungitest BIORAD	11	7,8	127	90,1	3	2,1	141
E test BIOMERIEUX	1	1,4	69	98,6			70
Candifast ES TWIN ELITECH			30	81,1	7	18,9	37
disques BIORAD			30	88,2	4	11,8	34
Fungifast ELITECH			24	92,3	2	7,7	26
Fungifast AFG ELITECH			16	100,0			16
Neosensitabs ROSCO			8	100,0			8
YeastOne Sensititre BIOCENTRICS			7	100,0			7
Mycodisk SOBIODA	1	25,0	3	75,0			4
CMI liquide CLSI/EUCAST			2	100,0			2
non précisé	2	10,0	17	85,0	1	5,0	20
Total	225	14,3	1286	81,8	61	3,9	1572

Itraconazole

Réactif	I	%	R	%	S	%	effectif
ATB fungus 3 BIOMERIEUX	31	5,0	579	93,1	12	1,9	622
Fungitest BIORAD	2	1,4	136	95,1	5	3,5	143
E test BIOMERIEUX			31	96,9	1	3,1	32
Fungifast ELITECH			25	100,0			25
Fungifast AFG ELITECH			16	100,0			16
Vitek 2 BIOMERIEUX *	1	6,3	14	87,5	1	6,3	16
Candifast ELITECH *			8	61,5	5	38,5	13
YeastOne Sensititre BIOCENTRICS			7	100,0			7
Neosensitabs ROSCO			4	80,0	1	20,0	5
disques BIORAD	1	20,0	4	80,0			5
Mycodisk SOBIODA			2	66,7	1	33,3	3
CMI liquide CLSI/EUCAST			2	100,0			2

Candifast ES TWIN ELITECH *			1	100,0			1
non précisé	1	11,1	8	88,9			9
Total	36	4,0	837	93,1	26	2,9	899

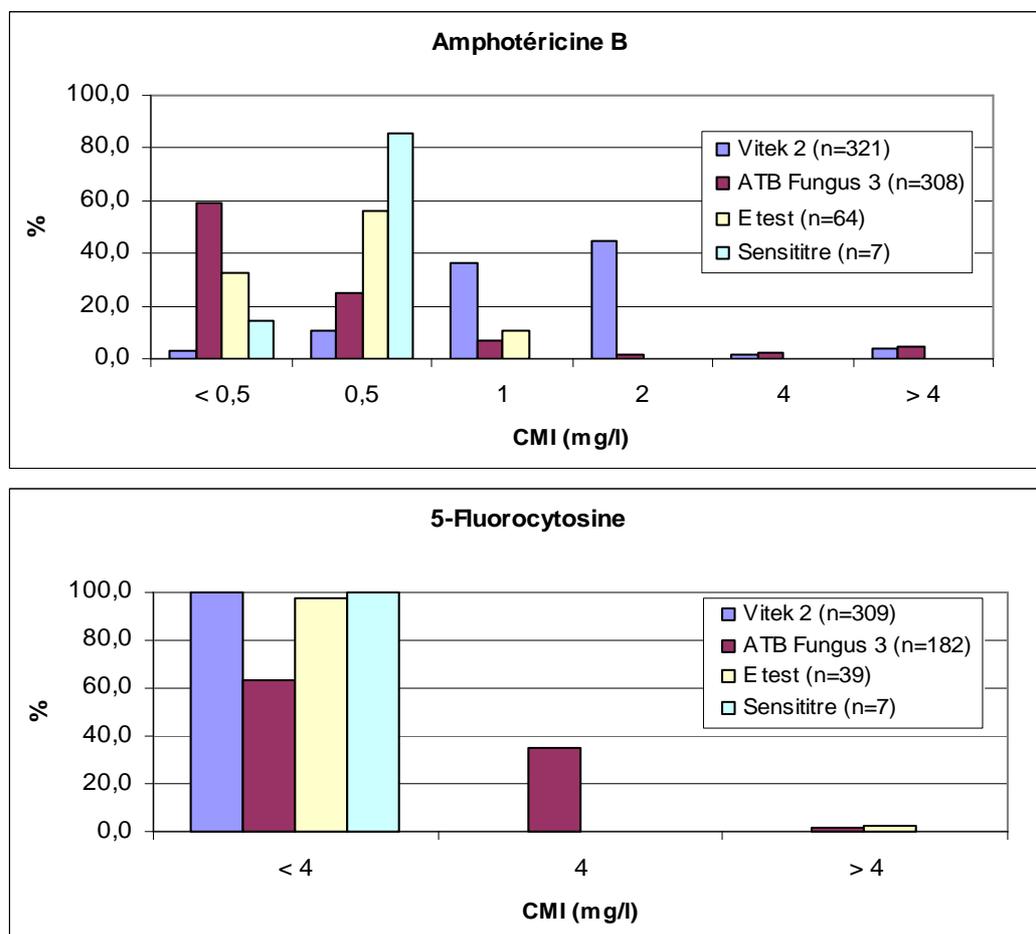
* : ne teste pas l'itraconazole

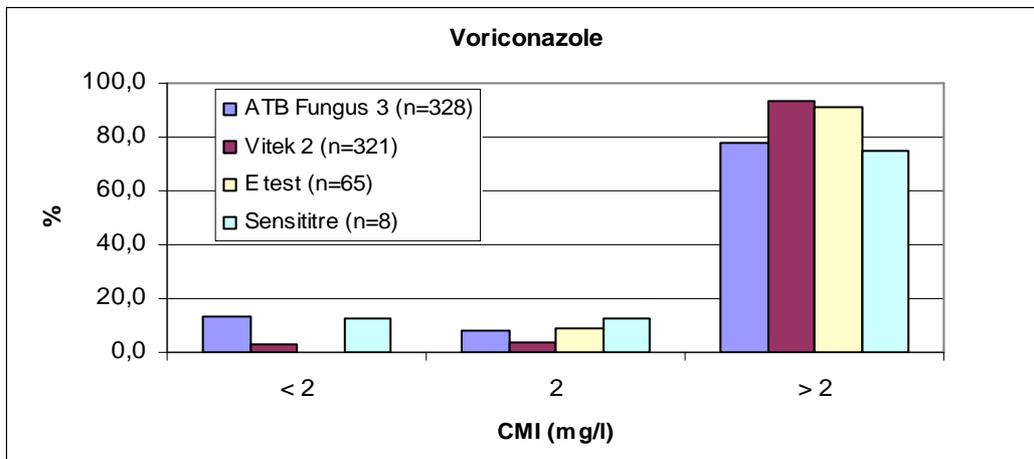
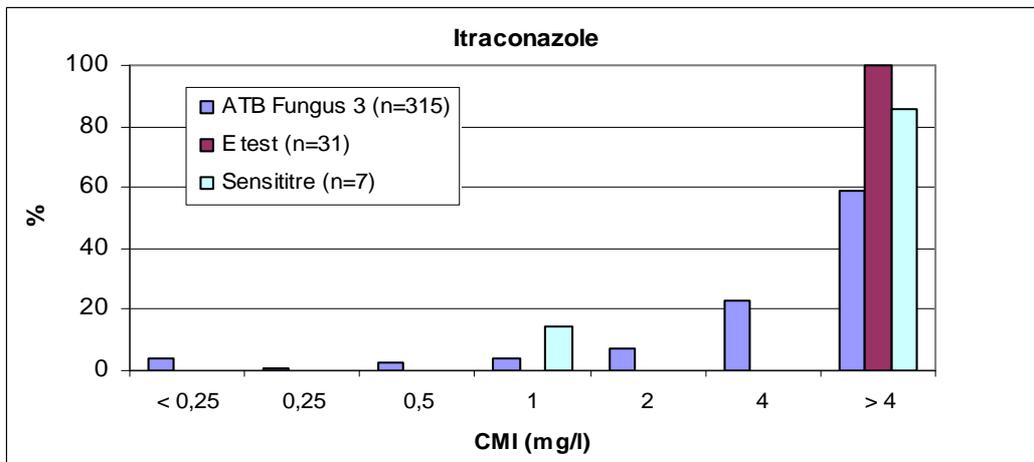
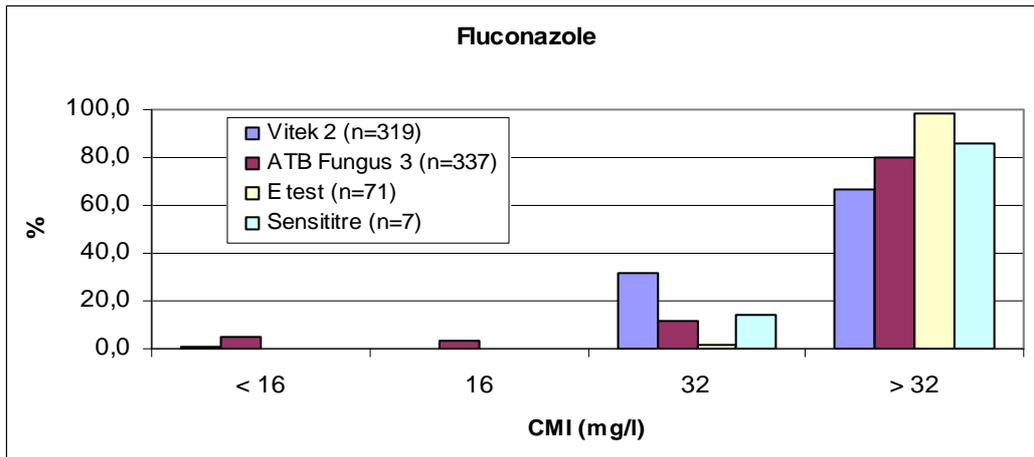
Voriconazole

Réactif	I	%	R	%	S	%	effectif
ATB fungus 3 BIOMERIEUX	52	8,5	463	75,7	97	15,8	612
Vitek 2 BIOMERIEUX	15	3,8	358	91,3	19	4,8	392
E test BIOMERIEUX	8	12,3	57	87,7			65
Fungifast ELITECH	5	20,8	19	79,2			24
Fungifast AFG ELITECH	6	37,5	8	50,0	2	12,5	16
Candifast ELITECH *	1	7,7	8	61,5	4	30,8	13
disques BIORAD			11	100,0			11
YeastOne Sensititre BIOCENTRICS	2	25,0	5	62,5	1	12,5	8
Fungitest BIORAD *			5	83,3	1	16,7	6
CMI liquide CLSI/EUCAST	2	50,0	2	50,0			4
Neosensitabs ROSCO			3	100,0			3
Mycodisk SOBIODA			2	66,7	1	33,3	3
Candifast ES TWIN ELITECH *			1	100,0			1
non précisé			11	84,6	2	15,4	13
Total	91	7,8	953	81,4	127	10,8	1171

* : ne teste pas le voriconazole

figure 2 - Distribution des CMI en fonction du réactif utilisé





Antifongigramme : Commentaires

Près des deux tiers (64,2%) des laboratoires ayant réalisé une identification de la levure ont complété l'analyse par un antifongigramme (au moins un antifongique testé).

Quatre familles d'antifongiques sont disponibles pour le traitement des candidoses invasives : les polyènes, la 5-fluorocytosine, les azolés et les échinocandines. Leur spectre d'activité sur les différentes espèces de *Candida* est rappelé dans le tableau ci-dessous (extrait de la conférence de consensus sur la prise en charge des candidoses et des aspergilloses invasives de l'adulte).

	Fungizone®	Ancotil®	Triflucan®	Sporanox®	Vfend®	Candidas®
<i>Candida</i> sp.						
<i>albicans</i>	S	S/R	S	S	S	S
<i>glabrata</i>	S/I	S	SDD/R	SDD/R	S/??	S
<i>parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S/??
<i>tropicalis</i>	S	S	S/SDD	S	S	S
<i>krusei</i>	S/I	I/R	R	SDD/R	S	S
<i>lusitaniae</i>	S/R	S	S	S	S	S

S : sensible, **SDD** : sensibilité dose-dépendante, **I** : intermédiaire, **R** : résistant

En ce qui concerne les réactifs utilisés par les laboratoires participants, la galerie ATB Fungus 3 de BioMérieux arrive en tête. Elle est suivie par l'automate Vitek 2, puis par les galeries commercialisées par ELITECH (Candifast et Candifast ES Twin) et Biorad (Fungitest). Trois distributeurs de disques sont cités (Biorad, Sobiada, Rosco par ordre de fréquence décroissante) pour la méthode de diffusion en milieu gélosé qui reste très peu utilisée.

En ce qui concerne les résultats globaux de l'antifongogramme (tableau XIV), la sensibilité de la souche à l'amphotéricine B et à la 5-fluorocytosine a été relevée par respectivement 82,7 et 96,7% des laboratoires participants tandis que la résistance aux trois azolés a bien été détectée dans 81,8% des cas pour le fluconazole (3,9% d'erreurs très majeures : réponse « S » à la place de « R »), 93,1% des cas pour l'itraconazole (2,9% d'erreurs très majeures) et 81,4% des cas pour le voriconazole (10,8% d'erreurs très majeures).

La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus en 2004 pour la même souche montre une amélioration du taux de bonnes réponses pour l'itraconazole liée à une baisse de 3,3% des erreurs très majeures, un pourcentage identique de bonnes réponses pour la 5-fluorocytosine et le fluconazole, avec toutefois pour ce dernier une baisse de 4,3% des erreurs très majeures. Seule l'amphotéricine voit son taux de bonnes réponses « S » diminuer au profit des réponses « I » (erreur mineure). L'origine de ce résultat sera donnée plus loin.

Il était également demandé aux laboratoires qui disposaient du réactif adéquat (galerie ATB fungus 3 ou Vitek 2 ou bandelettes E-test ou galerie Sensititre) de préciser les CMI des antifongiques vis-à-vis de la souche testée.

L'analyse des réponses S, I ou R (tableau XV) et des CMI obtenues en fonction du réactif utilisé (figure 2) montre que :

- pour l'amphotéricine B, le pourcentage de réponses correctes « S » varie de 94 à 98% pour les réactifs les plus utilisés, à l'exception du Vitek qui affiche un taux de réponses « intermédiaire » proche de 43% et des deux galeries Candifast qui conduisent à un pourcentage de fausses réponses « R » proche de 20%.

Selon l'EUCAST, une souche est résistante lorsque la CMI est > 1 mg/l. Elle est sensible si la CMI est ≤ 1 mg/l ; ce qui est le cas pour la souche testée ici (CMI ≤ 0,5 mg/l).

On note que la CMI obtenue avec le Vitek est surestimée (CMI modale = 1-2 mg/l) (figure 2). Ceci explique le pourcentage élevé de réponses « intermédiaire », car une CMI égale à 2 mg/l est interprétée « intermédiaire » par cet automate.

Quant aux galeries Candifast, elles ne testent qu'une seule concentration (4 mg/l), non pertinente, d'AMB. Par conséquent, seules les souches pour lesquelles la CMI de l'AMB est > 4 mg/l sont considérées comme résistantes. Le pourcentage non négligeable de fausses réponses « R » obtenus avec ces galeries n'est pas expliqué (défaut de stabilité de l'antifongique ?).

- pour la 5-fluorocytosine, si l'on exclu les résultats obtenus avec les disques, le taux de bonnes réponses « S » est excellent. Quel que soit le réactif considéré, les CMI obtenues sont majoritairement (99,2%) inférieures ou égales à la concentration critique basse (4 mg/l) donnée par le CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute) (figure 2).

- pour le fluconazole, l'EUCAST a défini des concentrations critiques (≤ 2 et > 4mg/l) pour trois espèces : *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis*. En revanche, aucune concentration critique n'a été établie pour *C. glabrata* qui n'est pas une bonne cible pour cet antifongique. Concernant l'espèce *C. glabrata*, l'EUCAST recommande de rendre la CMI avec un commentaire, mais sans interprétation de type S, I ou R. Néanmoins, les notices des réactifs destinés à la réalisation de l'antifongogramme continuent de

préconiser des concentrations critiques basse et haute (≤ 8 et > 32 mg/l) définies, il y quelques années, par le CLSI pour catégoriser les souches en S, I ou R.

La souche testée est résistante au fluconazole avec une CMI > 64 mg/l (CMI ≥ 256 mg/l par la méthode du E-test). La proportion élevée (14%) de réponses « intermédiaire » est due au Vitek et à l'ATB Fungus 3. En effet, on observe une sous-estimation de la CMI (CMI = 32 mg/l) rendue par 102 laboratoires utilisateurs du Vitek. Cette sous-estimation de la CMI est également observée, dans une moindre mesure avec l'ATB Fungus 3. De plus, pour ce réactif, le paragraphe « limites du test » de la notice d'utilisation stipule qu' « *il est recommandé d'interpréter Intermédiaire les souches de C. glabrata présentant un résultat sensible au fluconazole et/ou à l'itraconazole, du fait d'une moindre sensibilité naturelle de cette espèce vis-à-vis de ces antifongiques* ». Cette recommandation conduit peut-être à un excès de réponses « intermédiaire ».

On note également un taux important d'erreurs très majeures (réponses « S ») pour les galeries Candifast qui reste inexplicé puisque seules les souches pour lesquelles la CMI du FCZ est ≤ 16 mg/l peuvent être rendues « S » avec ces galeries, ce qui n'est pas le cas de la souche testée.

- l'itraconazole ne figure pas dans les schémas thérapeutiques d'une candidose invasive et il ne fait pas partie de la liste des antifongiques étudiés par l'EUCAST pour le traitement des infections à Candida. Certains réactifs comme le Vitek ou les galeries Candifast ne le testent pas. Les autres réactifs utilisent les concentrations critiques basse et haute ($\leq 0,125$ et $> 0,5$ mg/l) du CLSI pour catégoriser les souches en S, I ou R. La souche testée, très résistante vis-à-vis de cet antifongique (CMI > 8 mg/l) n'a pas posé de problème.

- pour le voriconazole, l'EUCAST a défini une concentration critique unique (0,125 mg/l) pour trois espèces : *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis*. En revanche, aucune concentration critique n'a été établie pour *C. glabrata*. Concernant cette espèce, l'EUCAST recommande, comme pour le fluconazole, de rendre la CMI avec un commentaire, mais sans interprétation S, I ou R. Néanmoins, les notices des réactifs destinés à la réalisation de l'antifongigramme continuent de préconiser des concentrations critiques basse et haute (≤ 1 et > 2 mg/l) définies par le CLSI, pour catégoriser les souches en S, I ou R. Certains réactifs comme le Fungitest ou les galeries Candifast ne testent pas le voriconazole. Les trois quarts des fausses réponses « S » sont dus au réactif le plus utilisé ATB fungus 3, pour lequel près de 14% des utilisateurs ont rapporté une CMI ≤ 1 mg/l.

Bien que l'on note une émergence de la résistance aux échinocandines (caspofungine, anidulafungine, micafungine) qui font également partie de l'arsenal thérapeutique lors de candidoses systémiques, celles-ci n'ont pas été incluses dans la liste des antifongiques à tester lors de cette opération de contrôle. Actuellement, seules les bandelettes E-test BioMérieux et les plaques YeastOne Sensititre Biocentrics permettent de tester cette famille d'antifongiques.

Selon la conférence de consensus de 2004 sur la prise en charge des candidoses et des aspergilloses invasives de l'adulte (1), l'augmentation de l'incidence des *Candida* de sensibilité diminuée ou résistants aux azolés, une neutropénie, une insuffisance rénale et les médicaments co-prescrits interviennent dans le choix du traitement antifongique.

Bibliographie

1 - Prise en charge des candidoses et aspergilloses invasives de l'adulte - conférence de consensus 2004 http://www.infectiologie.com/site/_congres_conf_org_spilf.php

2 - Cuenca-Estrella, M., A. Gomez-Lopez, A. Alastruey-Izquierdo, L. Bernal-Martinez, I. Cuesta, M.J. Buitrago and J.L. Rodriguez-Tudela. Comparison of the Vitek 2 antifungal susceptibility system with the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial susceptibility Testing (EUCAST) Broth Microdilution Reference Methods and with the Sensititre YeastOne and Etest techniques for the in vitro detection of antifungal resistance in yeast isolates. 2010. J Clin Microbiol **48** (5): 1782-6

3 - Pfaller, M.A., D. Andes, D.J. Diekema, A. Espinel-Ingroff and D. Sheehan. Wild-type MIC distributions, epidemiological cut-off values and species-specific clinical breakpoints for fluconazole and Candida : time for harmonization of CLSI and EUCAST broth microdilution methods. 2010. Drug Resist Updat **13**:180-95.

4 - 2008. EUCAST technical note on fluconazole. Clin Microbiol Infect **14**:193-5.

5 - 2008. EUCAST technical note on voriconazole. Clin Microbiol Infect **14**:985-7.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons ont été adressés à chacun des 2197 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

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

- « 1001 ou 1002 » et « 1005 ou 1006 » : présence d'IgG (taux moyen) / absence d'IgM anti-toxoplasme,
- « 1003 ou 1004 » et « 1007 ou 1008 » : présence d'IgG (taux fort) / absence d'IgM anti-toxoplasme,
- « 1009 ou 1010 » et « 1011 ou 1012 » : absence d'IgG / absence 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, 1625 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (78%), soit avec deux réactifs (22%).

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

Les conclusions (« négatif », « limite » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 1009-1010 et 1011-1012 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XVII.

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 XVIII et XIX.

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 XX.

tableau XVI - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :	1719 (86,6%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	519
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	251
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	228
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	155
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	139
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	95
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	91
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	56
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	45
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	35
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	33

BIORAD "Platelia Toxo IgG"	23
DIASORIN "Liaison Toxo IgG "	16
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	15
SIEMENS "Immulite toxoplasmosse G"	11
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmosse IgG"	7
LATEX :	176 (8,9%)
FUMOUCHE "Toxolatem"	129
BIORAD "Pastorex Toxo"	32
SERVIBIO "Servitex Toxo"	9
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	6
HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :	31 (1,6%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :	23 (1,2%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	33
AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :	30 (1,5%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
REACTIF autre ou non précisé (NP) :	6 (0,3%)
Total	1985 (100%)

tableau XVII - Echantillons négatifs : 1009-1010 et 1011-1012

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	1156	117	10	22	32	4	1341
Positif	2						2
Total	1158	117	10	22	32	4	1343

tableau XVIII - Echantillons : 1001-1002 et 1005-1006

Conclusions en fonction de la technique utilisée

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	Total
Négatif	-	1	-	-	-	-	1
Positif	1135	115	19	14	18	4	1305
Total	1135	116	19	14	18	4	1306

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	17	17	11
m Tr	57,5	64,5	38,7
CV Tr (%)	12	22	12
intervalle 1 écart-type	35 - 94	26 - 160	25 - 60

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	345	332	73,2	8,9	12,2
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	154	144	27,3	4,2	15,3
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	97	92	588,5	32,8	5,6
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	97	91	90,1	11,4	12,7
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	68	65	87,5	10,0	11,5
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	63	61	153,1	9,4	6,1
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	145	141	22,9	1,3	5,6
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	38	38	67,8	9,0	13,3
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	25	24	52,9	4,2	7,8
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	28	25	577,8	30,1	5,2
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	12	10	120,4	32,6	27,1
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	21	20	96,3	7,2	7,5
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	14	14	71,4	16,5	23,1
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1121</i>	<i>995</i>	<i>67,9</i>	<i>38,7</i>	<i>57,0</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 XIX - Echantillons 1003-1004 et 1007-1008

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	Total
Négatif					1		1
Positif	1130	114	20	14	18	4	1300
Total	1130	114	20	14	19	4	1301

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	17	17	11
m Tr	223,9	262,4	104,6
CV Tr (%)	19	17	23
intervalle 1 écart-type	138 - 363	101 - 680	36 - 305

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	333	309	255,4	40,4	15,8
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	153	147	121,4	26,8	22,1
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	86	74	3385,6	225,2	6,7
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	90	85	412,8	43,4	10,5
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	68	60	404,2	35,5	8,8
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	64	64	> 700		
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	145	138	112,2	6,7	5,9
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	29	29	330,0	66,7	20,2
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	24	22	266,4	19,1	7,2
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG"	24	23	3331,5	211,8	6,4
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	9	9	284,4	137,0	48,1
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	21	20	317,0	34,6	10,9
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	14	14	234,1	51,2	21,9
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1015</i>	<i>906</i>	<i>247,2</i>	<i>140,0</i>	<i>56,6</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 XX - Technique immunoenzymatique : dispersion des titres des deux échantillons positifs
Comparaison avec des échantillons de titre proche des opérations précédentes

Echantillons	Opération	Année	Titre (UI/ml)			le plus élevé/ le plus faible
			tous réactifs	le plus faible	le plus élevé	
1001-1002 et 1005-1006	10PAR1	2010	67,9	22,9^(a)	588,5^(c)	26
0603-0604-0607-0608	06PAR1	2006	54,5	29,1 ^(b)	479,0 ^(c)	16
0507-0508	05PAR1	2005	52,5	25,0 ^(b)	126,1 ^(d)	5
1003-1004 et 1007-1008	10PAR1	2010	247,2	112,2^(a)	3385,6^(c)	30
0407-0408	04PAR1	2004	146,9	57,2 ^(b)	331,1 ^(d)	6

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

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 1622 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (91,3%), soit avec deux réactifs (8,7%).

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

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

Tableau XXI - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</u>	1689 (95,8%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	510
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	250
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	224
ROCHE "Elecsys/modular Toxo M"	153
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	138
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	97
SIEMENS "ToxoM/ADVIA Centaur"	93
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmosse M"	55
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	47
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgM"	33
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	31
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	21
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	13
SIEMENS "Immulite toxoplasmosse M"	12
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	7
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmosse IgM"	5
<u>LATEX :</u>	21 (1,2%)
FUMOUCHE "Toxolax"	15
BIORAD "Pastorex Toxo"	5
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	1
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.):</u>	20 (1,1%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</u>	14 (0,8%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>ISAGA :</u>	14 (0,8%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	5 (0,3%)
Total	1763 (100%)

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

Echantillons 1001-1002 et 1005-1006

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1107	11	5	12	1	5	1141
Positif	1				2		3
Total	1108	11	5	12	3	5	1144

Echantillons 1003-1004 et 1007-1008

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1104	11	6	11	1	5	1138
Positif	2				2		4
Total	1106	11	6	11	3	5	1142

Echantillons 1009-1010 et 1011-1012

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Total
Négatif	1138	18	17	4	28	1205
Positif	2					2
Total	1140	18	17	4	28	1207

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 XXIII). 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 XXIV.

tableau XXIII - 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 XXIV- Conclusions des biologistes

Echantillon	1001-1002 1005-1006	1003-1004 1007-1008	1009-1010 1011-1012
IgG	positif	positif	négatif
Titre moyen IgG (UI/ml)	67,9	247,2	0
Effectif	1032	1057	1037
Conclusion (%) :			
TOX A "absence d'anticorps. Absence d'immunité"	-	-	77,9
TOX C "immunité ancienne probable"	46,3	43,9	-
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	2,8	3,8	0,6
TOX C + TOX I	50,4	49,7	-
TOX A + TOX I			21,5
Autres conclusions	0,5	2,6	-

Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, on note deux conclusions faussement positives avec les échantillons négatifs 1009-1010 et 1011-1012 (tableau XVII). Ces deux conclusions erronées sont le fait d'un unique laboratoire qui a rendu pour les deux échantillons négatifs un titre égal à zéro et qui a conclu « positif » à tort.

En ce qui concerne les deux échantillons positifs en IgG, on note deux faux négatifs sur 2607 tests : un pour l'échantillon 1001-1002-1005-1006 (tableau XVIII) et un pour l'échantillon 1003-1004-1007-1008 (tableau XIX). 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 XX). Pour un même échantillon, le rapport entre le titre le plus élevé et le titre le plus faible, obtenus respectivement avec les réactifs ROCHE Elecsys/Modular Toxo G et ABBOTT Architect Toxo IgG, est de 26 ou 30 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 3493 tests réalisés par l'ensemble des 1622 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 9 (0,26%) conclusions incorrectes « positif » (tableau XXII). Quatre laboratoires ont rendu les deux échantillons testés faussement « positif » avec les réactifs : FUMOUCHE Toxolates, BIORAD Pastorex Toxo, BIOMERIEUX Vidas compétition, ROCHE Elecsys/Modular et un laboratoire a rendu un seul échantillon « positif » sur les deux testés avec le réactif BECKMAN Access. Il faut noter que les latex (« Toxolates », « Pastorex Toxo » et « Servitex 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 96,2% (moins 1% par rapport à l'opération précédente 09PAR1).

Sur les 1037 laboratoires concernés par les échantillons « IgG et IgM négatifs », on note que 77,9% ont rendu la conclusion attendue : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » (TOX A) et 21,5% 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 (pourcentage identique par rapport à l'opération précédente 09PAR1).

Pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue était : « Immunité ancienne probable » (TOX C) ou bien « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX C + TOX I). On note que le pourcentage d'interprétations correctes est différent selon le titre moyen en IgG de l'échantillon : 96,7% pour un titre en IgG autour de 70 UI/ml et 93,6% pour un titre plus élevé autour de 250 UI/ml (tableau XXIV). Le score plus mauvais obtenu pour ce dernier est dû en partie au fait que 25 laboratoires ont donné une interprétation erronée du taux élevé d'IgG, à savoir : « profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose récente » (TOX D).