

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin  
Coprologie parasitaire  
Sérologie de la toxoplasmose  
Sérologie de la trichinose

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

Expédition : 25 mai 2005

Clôture : 20 juin 2005

Edition des compte-rendus individuels : 07 octobre 2005

Paramètres contrôlés : **Frottis sanguin** : *Loa loa* + *Mansonella perstans*, *Plasmodium ovale*,  
*Plasmodium falciparum*.

**Coprologie parasitaire** : *Paragonimus westermani*, *Isospora belli*,  
*Ascaris lumbricoides*

**Sérologie de la toxoplasmose**

**Sérologie de la trichinose**

Nombre de laboratoires concernés\* : 4149

Nombre de laboratoires participants\*\* : 3977

\* 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 biparasité par *Loa loa* et *Mansonella perstans* (association fréquente en pays d'endémie de loase) a été adressé pour la 3<sup>ème</sup> fois aux laboratoires. Près de 85% des participants ont identifié *Loa loa*, soit 6% de plus qu'au dernier envoi en 2000.

Deux frottis de paludisme ont également été proposés. L'un à *P. ovale* ne contenait que des trophozoïtes et des gamétocytes. Un laboratoire sur cinq a confondu *P. ovale* avec *P. vivax* ; ce qui n'est pas surprenant. En effet, l'absence de schizontes dans ce frottis rendait le diagnostic différentiel avec *P. vivax* encore plus délicat. Le troisième frottis comportait uniquement des trophozoïtes de *P. falciparum*. Cette espèce a été correctement identifiée par plus des deux tiers des participants malgré une parasitémie relativement faible (0,3%).

En ce qui concerne la recherche de parasites dans les selles, les œufs de *Paragonimus westermani*, de grande taille et par conséquent assez faciles à repérer dès le grossissement X10 ont été identifiés par 52% des laboratoires. C'est le plus mauvais score obtenu pour ce parasite proposé pour la 3<sup>ème</sup> fois ; l'erreur la plus fréquente a été de les confondre avec les œufs d'autres douves telles que *Fasciola hepatica* ou *Fasciolopsis buski* (34% des réponses).

En revanche, on note une amélioration constante de l'identification des oocystes d'*Isospora belli* : 93% de diagnostics corrects, soit 37% de plus qu'en 1994, année du 1<sup>er</sup> envoi.

Quand au diagnostic d'œufs d'*Ascaris*, réalisé par 95% des laboratoires (score stable par rapport à l'envoi précédent), il ne semble pas poser de problème.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2501 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. De façon récurrente, on note une dispersion importante des titres moyens obtenus pour les différents réactifs immunoenzymatiques. Ceci en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI les IgG anti-toxoplasme.

Vingt-huit laboratoires, en majorité hospitaliers, ont testé deux échantillons (un positif et un négatif) destinés au sérodiagnostic de la trichinose. L'échantillon « positif », déjà proposé en 2000, a été diagnostiqué comme tel par l'ensemble des participants ; ce qui représente une amélioration sensible par rapport à l'envoi précédent, probablement due à l'abandon progressif des techniques d'immunoprécipitation au profit du western blot.

# Frottis sanguin

## 1 - Echantillons MOUNKA et KIKADI

### Définition de l'échantillon

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

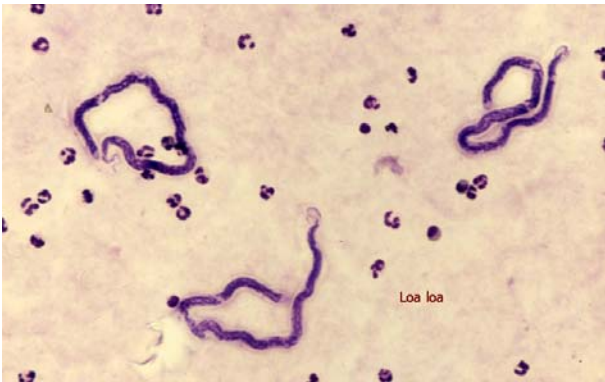
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Dr C. CHAUMEIL (Paris) est le suivant :

Nom des parasites : *Loa loa* et *Mansonella perstans*

Stade : microfilaires

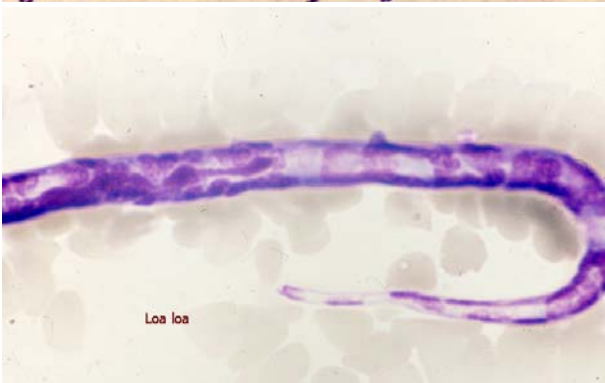
Richesse du frottis : 3 à 17 microfilaires *Loa loa* et 0 à 3 microfilaires *M. perstans* par frottis.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un malade originaire du Congo ayant consulté en ophtalmologie pour un élément mobile sous conjonctival.



**Photo 1 :**

Trois microfilaires *Loa loa* en goutte épaisse.  
Obj. X25



**Photo 2 :**

Microfilarie *Loa loa* : extrémité postérieure.  
Corps interne visible  
Obj. X100



**Photo 3 :**

Microfilaires *Loa loa* et *M. perstans*.  
Obj. X100

## Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1280 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau I .

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors de deux envois précédents en 1984 et 2000 d'un frottis sanguin parasité par ces deux espèces sont rapportés dans le tableau II. Les frottis proposés en 2005 et 2000 ont été réalisés à partir du même prélèvement.

**Tableau I** - Ensemble des réponses des 1280 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Microfilaire	<i>Loa loa</i>	78,6	84,8 soit 86,8% des 1251 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Larve		2,7	
Adulte		1,6	
divers/non précisés		2,0	
Microfilaire	<i>Mansonella perstans</i>	8,9	9,7
divers/non précisés		0,8	
divers/non précisés	<i>Onchocerca volvulus</i>		6,6
divers/non précisés	<i>Wuchereria bancrofti</i>		1,2
divers/non précisés	Filaires autres		0,7
Microfilaire	Espèce non précisée		0,5
ABSENCE DE PARASITE			0,9
PAS DE REPONSE			0,5
EXAMEN TRANSMIS			1,7

**Tableau II** - Bilan des trois opérations de contrôle « *Loa loa* + *M. perstans* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse du frottis en <i>Loa loa</i> *	% de laboratoires ayant répondu :			
			« <i>Loa loa</i> »	« <i>M. perstans</i> »	microfilaires autres espèces	« absence de parasite »
2005	1280	3 - 17	84,8	9,7	1,2	0,9
2000	1283	1 - 20	78,6	19,9	3,7	1,1
1984	1134	1 - 20	78,6	14,4	2,0	2,8

\*: nombre moyen de microfilaires par frottis

## Commentaires

*Loa loa* est une filaire diurne tandis que *Mansonella perstans* est apériodique. Leur répartition géographique est en partie la même en Afrique, d'où de fréquentes co-infestations.

*Loa loa* sévit en Afrique de l'ouest et centrale (plus particulièrement dans les zones forestières) : République du Congo-Brazzaville, République démocratique du Congo, Nigéria, Cameroun, République Centrafricaine, Gabon, Nord-ouest de l'Angola ainsi qu'au sud du Soudan et du Tchad, avec de rares cas au Bénin et en Ouganda. Les microfilaires de *Loa loa* se caractérisent par leur taille (250-300 µm), elles possèdent une gaine difficilement colorée au MGG ; La présence de noyaux allongés plaqués sous la cuticule est caractéristique. Un dernier noyau allongé se trouve en position terminale, le corps interne est souvent visible plus ou moins recouvert par les noyaux (photos 1 et 2).

Le passage de la filaire adulte sous la conjonctive bulbaire ou palpébrale permet de la voir et souvent de l'extraire (1 cas par an environ au Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, Paris). L'examen de celle-ci à la loupe ou au microscope à faible grossissement permet d'observer sur le tégument la présence de bosselures caractéristiques. La taille de la filaire adulte est d'environ 5 cm pour la femelle et 3 cm pour le mâle.

*Loa loa* est une filaire peu pathogène, les patients sont souvent asymptomatiques, un oedème des extrémités, en particulier des membres supérieurs est un des symptômes les plus fréquents de cette filariose. Cet oedème, appelé oedème de Calabar, est prurigineux, fugace, migrateur et fréquent également au niveau de la face. Il est déclenché par le passage du ver sous la peau. Les autres manifestations sont plus rares : complications cardiaques (endocardite fibroblastique de Loeffler), rénales (protéinurie isolée, rarement sévère). Chez 26 patients marocains ayant une filariose à *Loa loa* après un séjour en Guinée équatoriale, des oedèmes de Calabar avec prurit ont été rapportés chez tous les patients, le passage sous la conjonctive a été observé dans

13 cas /26, le passage sous-cutané de la filaire dans 19 cas/26, d'autres symptômes (fièvre, asthénie) dans 11 cas /26 (1).

*M. perstans* est présente en Afrique, en Amérique centrale et du sud. Elle est plus petite que *Loa loa* (150-180 µm) et n'a pas de gaine, ses noyaux somatiques sont de taille moyenne, irréguliers, le dernier noyau est arrondi et recouvert de la cuticule montrant un aspect caractéristique dit « en doigt de gant », le corps interne n'est pas visible contrairement à celui de *Loa loa* (photo 3).

*M. perstans* est difficile à traiter mais cette filaire n'est pratiquement pas pathogène, elle peut parfois provoquer un prurit modéré et des céphalées modérées.

*Onchocerca volvulus* (6,6% des réponses) est très répandu au Congo, plus de 4 millions de personnes en République démocratique du Congo en sont atteintes, la prévalence peut atteindre 95% dans la vallée de la rivière Sankuru (2). Les microfilaries restent dans le tissu sous cutané et ne sont retrouvées qu'exceptionnellement dans le sang. La symptomatologie de l'onchocercose est très différente de la loase ; les lésions oculaires sont en général tardives, elles sont dues à la présence de microfilaries vivantes puis mortes, dans le segment antérieur : kératite, lésions inflammatoires autour de la microfilarie, uvéite antérieure, cataracte ou, au pôle postérieur, chorioretinite, névrite optique, atrophie optique. L'onchocercose, actuellement en cours d'éradication (African Programme for Onchocerciasis Control), est la seconde cause de cécité dans le monde après le trachome. La mise en évidence des microfilaries se fait par biopsie cutanée exsangue.

Le traitement ne doit être instauré qu'après la recherche de microfilaries sanguines qui mettra en évidence les co-infestations fréquentes et surtout permettra l'évaluation de la microfilarémie. En effet, un traitement intempestif par l'Ivermectine®, comme cela est arrivé par exemple dans le cadre des campagnes d'éradication de l'onchocercose chez des patients ayant une microfilarémie supérieure à 25-30 microfilaries/µl, peut entraîner des complications neurologiques graves, parfois mortelles (encéphalite thérapeutique), liées à la mort brutale des microfilaries. Une étude effectuée au centre du Cameroun montre que dans les zones où la prévalence de *Loa loa* est importante, 20 à 40% de la population, le traitement systématique de l'onchocercose par l'ivermectine présente un risque, car 6% de la population adulte présente alors une microfilarémie > 30 microfilaries/µl (3). Pour cette raison, les campagnes de traitement de masse de l'onchocercose par l'ivermectine sans contrôle préalable de la prévalence de *Loa loa* sont maintenant proscrites (Combined Utilisation of Rapid Assessment Procedures for Loiasis (RAPLOA) and Onchocerciasis (REA) in Rain forest Villages of Cameroon, *Filaria J.* 2005, Apr. 4(1) : 2). Si le nombre de microfilaries est inférieur à 25/µl, l'ivermectine est le plus souvent utilisée en 2 prises à 15 jours d'intervalle avec contrôle de la parasitémie 2 à 3 mois plus tard. L'alternative est la diethylcarbazine (D.E.C.) pendant 21 jours. Si le nombre de microfilaries est supérieur à 25/µl, le patient sera hospitalisé et le traitement conduit avec des doses progressivement croissantes d'antiparasitaire accompagné le plus souvent de Polaramine Repetab® ou d'un corticoïde.

Une numération formule sanguine sera effectuée, avec un prélèvement entre 10h et 15h, qui permettra outre la recherche d'une hyperéosinophilie (elle peut cependant être absente), la recherche de microfilaries sur un frottis mince coloré au MGG. L'EDTA ou le citrate utilisés comme anticoagulants permettent de garder les microfilaries vivantes plusieurs jours. L'observation de microfilaries de *Loa loa* sera suivie d'une technique de dénombrement qui permettra de décider du protocole thérapeutique ; l'absence de microfilaries devra les faire rechercher par une technique de concentration et de numération. Les techniques sont diverses : goutte épaisse calibrée, leucoconcentration, concentration après hémolyse et cyto centrifugation. Cette dernière technique permet la concentration, la numération et l'observation des microfilaries sans trop les altérer (4).

C. CHAUMEIL, Centre Hospitalier national d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, laboratoire - Paris 12<sup>ème</sup>.

(1) El Haraoui M, Erragragui Y et al, *Cutaneous filariasis Loa loa* : 26 moroccan cases of importation. *Ann Dermatol Venereol.* 2001, sept.128 (8-9) : 899-902.

(2) Law PA, Ngandu ON, Crompton P, Usungu O, Kosten D, Law JK, Burnham G. Prevalence of *Onchocerca volvulus* nodules in the Sankuru River Valley, Democratic republic of the Congo, and reliability of verbal assessment as a method for determining prevalence. *Am J Trop Med Hyg.* 1998, Aug. 59(2) : 227-230.

(3) Boussinesq M, Gardon J, Chippaux JP et al, Relationships between the prevalence and intensity of *Loa loa* infection in the Central province of Cameroon. *Ann Trop Med Parasitol.* 2001, jul. 95(5) : 495-507.

(4) Petithory J.C, Ardoin F, Ash L.R, Vandemeulebroucke E, Galeazzi G, Dufour M, Paugam A. Microscopic diagnosis of blood parasites following a cytoconcentration technique. *Am J Trop Med Hyg.* 1997, 57 : 78-83.

## 2 - Echantillons ADJETE et BADAHO

### Définition de l'échantillon

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

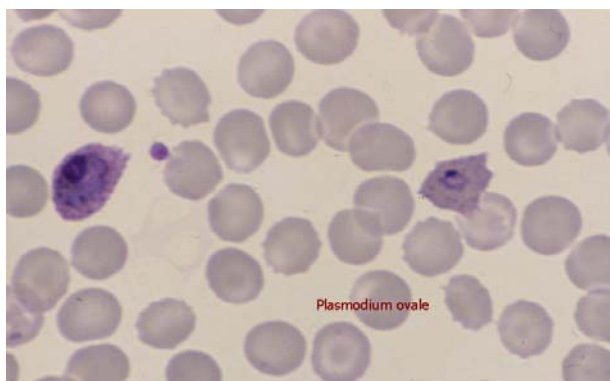
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium ovale*.

Stades : Trophozoïtes et gamétocytes.

Richesse du frottis : environ 0,5 % d'hématies parasitées.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un malade fébrile originaire du Bénin en France depuis 2 ans.



P. ovale : un gamétocyte et un trophozoïte âgé avec granulations de Schüffner.  
Obj. X100

## Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1260 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau III.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des 2 envois précédents d'un frottis sanguin comportant uniquement des trophozoïtes et des gamétocytes (absence de schizontes) de *P. ovale* sont rapportés dans le tableau IV.

**Tableau III** – Ensemble des réponses des 1260 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	64,4	77,0 soit 78,4% des 1238 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		24,8	
Schizontes âgés		17,1	
Gamétocytes		23,2	
divers/non précisés		0,5	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	15,7	19,4
Schizontes jeunes		5,8	
Schizontes âgés		4,4	
Gamétocytes		3,9	
divers/non précisés		0,5	
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		1,2
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,7
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,2
divers/non précisés	Parasites divers		0,2
ABSENCE DE PARASITE			<0,1
PAS DE REPONSE			0,9
EXAMEN TRANSMIS			1,6

**Tableau IV** - Bilan des trois opérations de contrôle « *Plasmodium ovale* » (trophozoïtes + gamétocytes).

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>P. ovale</i> »	« <i>P. vivax</i> »	« <i>P. falciparum</i> »
2005	1260	0,5	77,0	19,4	1,2
2002	1328	0,4	81,8	12,3	3,7
1996	1272	0,3	72,6	21,6	2,0

## Commentaires

En raison d'un certain nombre de caractères communs avec *P. vivax*, le diagnostic de *P. ovale* n'est pas toujours aisé et explique le fait que cette espèce n'ait été individualisée que tardivement (Stephens, 1922). L'hématie parasitée est classiquement plus grande et plus pâle que les autres hématies, et surtout ovalisée et frangée. Mais ce caractère ne concerne qu'un certain nombre d'entre elles. De plus, quelques hématies de ce type peuvent également se voir dans d'authentiques infections à *P. vivax*. Les granulations de Schüffner, grosses et abondantes, apparaissent précocement. Le cytoplasme des trophozoïtes et des schizontes n'est jamais de type franchement amiboïde, contrairement à ce qui se voit fréquemment dans les infections à *P. vivax*. Des granulations d'un vert très foncé ont été décrites dans le cytoplasme des jeunes schizontes. La rosace, de même taille que l'hématie, ne compte que 4 à 12 noyaux (rarement 16) alors que celle de *P. vivax*, plus grande, en compte de 18 à 24. Ces noyaux en saillie donnent à la rosace de *P. ovale* un aspect bosselé. Les gamétocytes ressemblent à ceux de *P. vivax* avec des grains de pigment plus grossiers. Le parasitisme est habituellement faible : 0,05% en moyenne.

L'absence de schizontes sur le frottis proposé complique le diagnostic d'espèce et favorise la confusion entre *P. ovale* et *P. vivax*. En cas de doute, l'origine géographique du cas est habituellement utilisée pour trancher : Afrique de l'ouest et Afrique Centrale pour *P. ovale* (patient originaire du Bénin dans le cas clinique qui accompagne le frottis), autres régions pour *P. vivax*. Toutefois, cette façon de faire doit être évitée car *P. ovale* est également présent dans un certain nombre de foyers extrême-orientaux ainsi qu'aux Philippines, à Madagascar et en Afrique de l'est. Une récente enquête effectuée par microscopie et PCR par l'Institut Pasteur au Cambodge dans certains villages Khmers a même montré que *P. ovale* était présent, la plupart du temps associé à d'autres espèces, dans environ 4 à 7,5% des prélèvements positifs pour *Plasmodium sp.* (1).

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

(1) Incardona S., Chy S. et al. Large sequence heterogeneity of the small subunit ribosomal RNA gene of *Plasmodium ovale* in Cambodia. *Am J Trop Hyg.*, 2005, 72(6) : 719-724).

## 3 - Echantillons ELATI et SLAMA

### Définition de l'échantillon

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

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

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : trophozoïtes

Richesse du frottis : environ 0,3 % d'hématies parasitées

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un malade fébrile ayant fait un voyage au Niger il y a deux mois.

### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1254 laboratoires participants (de 1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau V.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors de trois envois précédents d'un frottis sanguin faiblement parasité (parasitémie # 1%) et comportant uniquement des trophozoïtes de *P. falciparum* sont rapportés dans le tableau VI.

**Tableau V** – Ensemble des réponses des 1254 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	61,8	67,4 soit 69% des 1225 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		9,7	
Schizontes âgés		6,0	
Gamétocytes		0,8	
divers/non précisés		0,7	
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	16,5	19,1
Schizontes jeunes		5,4	
Schizontes âgés		3,1	
Gamétocytes		1,0	
divers/non précisés		0,2	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	6,5	7,9
Schizontes jeunes		2,6	
Schizontes âgés		1,8	
Gamétocytes		0,4	
divers/non précisés		< 0,1	
Trophozoïtes	<i>P. malariae</i>	3,7	4,5
Schizontes jeunes		1,2	
Schizontes âgés		0,6	
Gamétocytes		0,4	
divers/non précisés		0,2	
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,8
PAS DE REPONSE			0,5
EXAMEN TRANSMIS			1,8

**Tableau VI** - Bilan des quatre opérations de contrôle « Trophozoïtes *Plasmodium falciparum* » avec une faible parasitémie (# 1% hématies parasitées).

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>P. falciparum</i> »	« <i>P. vivax</i> » ou « <i>P. ovale</i> »	« absence de parasite »
2005	1254	0,3	67,4	27,0	0
2002	1326	1,0	70,7	25,8	0
2000	1301	0,1	80,9	11,2	2,2
1999	1316	0,5	57,5	38,2	0,2



## Commentaires

Parmi les 1254 laboratoires participants, 67,4 % ont indiqué la présence de *Plasmodium falciparum*, 32% ont identifié une autre espèce : *P. ovale*, *P. vivax* ou *P. malariae* et aucun n'a rendu « absence de parasite ». Le problème posé par ce frottis est donc le diagnostic d'espèce de *Plasmodium*.

Il s'agissait d'un malade fébrile de retour du Niger. En présence de tels renseignements, la recherche de paludisme s'imposait tout de suite. Après avoir choisi la partie centrale du frottis où la densité des hématies favorise la recherche des parasites (schéma ci-dessous) on utilise le grossissement X 1000.

La parasitémie ayant été évaluée à environ 0,3% par les experts, il suffit donc de parcourir 3 à 4 champs microscopiques pour trouver une hématie parasitée.

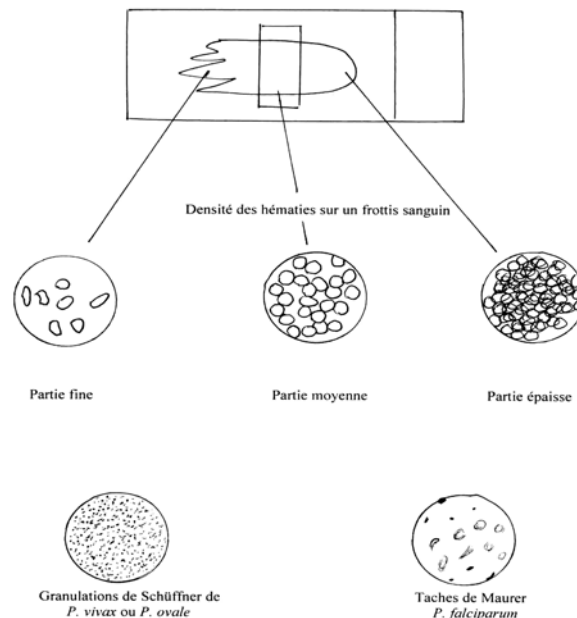
L'étude de plusieurs hématies parasitées nous permet de dire que :

- le globule rouge est de taille et de forme normales.
- le parasite est au stade trophozoïte car il y a un noyau, un cytoplasme et une vacuole nutritive. Il est assez grand et mesure entre un tiers et la moitié de l'hématie.
- la position de ce trophozoïte dans l'hématie est centrale, parfois accolée à la membrane et il fait assez souvent hernie à la surface de celle-ci.
- le biparasitisme est rare sur ce frottis.
- dans l'hématie, on voit des granulations souvent foncées ainsi que des taches de taille et de formes irrégulières, à centre clair, « en coup d'ongle », beige-rosé. Elles sont peu nombreuses, **on les compte facilement** : ce sont des taches de Maurer. Ces taches de Maurer permettent d'affirmer qu'il s'agit d'un *Plasmodium falciparum*, elles sont pathognomoniques de cette espèce et correspondent au stade **trophozoïte âgé**. L'identification des taches de Maurer aurait permis d'éviter les 32% de confusion avec d'autres espèces de *Plasmodium*.

Pour bien voir les taches de Maurer présentes dans presque toutes les hématies parasitées de ce frottis, il existe une technique rapide et peu coûteuse. La fixation du frottis par le May-Grünwald est suivie par la coloration au Giemsa. Ce dernier doit être dilué dans une eau à pH 7,2 - 7,4 pour bien mettre en évidence les taches de Maurer. La préparation d'une eau tamponnée est longue. Certaines eaux minérales, l'eau d'Evian entre autres, présentent le bon pH et peuvent servir directement à la dilution du Giemsa (1).

F. ARDOIN, Centre Hospitalier, Laboratoire - Gonesse.

(1) Petithory. JC. Ash LR. Rapid and inexpensive method of diluting Giemsa stain for diagnosis of Malaria and other infestations by blood parasites. J Clin Microbiol. 2005, 43(1), 528.



# Coprologie parasitaire

## 1 - Echantillons ARTHUR et BENOIT

### Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

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

Nom du parasite : *Paragonimus westermani*

Stade : oeuf

Richesse de la selle : 4 à 10 œufs par lamelle 22X22

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites dans les selles chez un français présentant une hyperéosinophilie à 1200/ $\mu$ l et ayant fait un voyage en Chine 4 mois auparavant.



Œuf de *P. westermani*

Opercule bien visible.

Obj. X40

### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1270 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des deux envois précédents de la même selle contenant des œufs de *P. westermani* sont rapportés dans le tableau VIII.

**Tableau VII** – Ensemble des réponses des 1270 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Oeuf	<i>P. westermani</i>	51,3	51,9
divers/non précisés		0,6	<b>soit 53,8% des 1226 laboratoires ayant rendu un diagnostic</b>
divers/non précisés	<i>Fasciolopsis buski</i>		20,9
divers/non précisés	<i>Fasciola hepatica</i>		13,0
divers/non précisés	<i>Chlonorchis sinensis</i>		4,1
divers/non précisés	<i>Dicrocoelium dendriticum</i>		1,7
divers/non précisés	Trématodes divers		1,4
Oeuf	<i>Diphyllobothrium latum</i>		2,4
divers/non précisés	Helminthes divers		0,9
divers/non précisés	Protozoaires divers		1,3
ABSENCE DE PARASITE			0,6
PAS DE REPONSE			1,1
EXAMEN TRANSMIS			2,4

**Tableau VIII - Bilan des trois opérations de contrôle « Œufs de *P.westermani* ».**

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>P. westermani</i> »	« <i>Fasciola hepatica</i> »	« <i>Fasciolopsis buski</i> »
2005	1270	4 - 10	51,9	13,0	20,9
1996	1218	2 - 6	80,9	4,2	2,3
1991	1189	2 - 8	71,2	8,6	3,4

\* : nombre d'œufs par lamelle 22X22

## Commentaires

Comme tous les œufs de douves, les œufs de *Paragonimus* sont operculés. Les œufs de *P. westermani* sont reconnaissables : par leur grande taille (85 à 100 µm/50 à 65 µm), leur couleur brun clair et leur forme ovoïde assez régulière avec un léger aplatissement au niveau de l'opercule. L'opercule est souligné d'un petit rebord qui fait saillie sur la ligne de contour de l'œuf. La coque est lisse et mince, avec un épaissement plus marqué au niveau du pôle opposé à l'opercule. L'œuf, non embryonné à la ponte, est rempli de cellules vitellines entourant une cellule ovulaire centrale plus claire. Des détails portant sur la taille, la symétrie et l'épaisseur de la coque, la forme de l'opercule, l'origine géographique permettent de différencier *P. westermani* (agent de distomatose pulmonaire asiatique) des autres espèces de *Paragonimus* asiatiques (*P. ringeri*), africaines (*P. africanus*, *P. uterobilateralis*) ou américaines (*P. kellicoti*)....

La taille des œufs *Paragonimus* permet aisément de les distinguer des autres œufs operculés de dimensions voisines : plus grandes, comme *Fasciola hépatica* (grande douve hépatique) : 130 à 140 µm/70 à 80 µm et *Fasciolopsis buski* (douve intestinale) : 125 à 135 µm/70 à 75 µm, plus petites comme *Diphyllbothrium latum* (bothriocéphale) : 70/45 µm.

Les douves adultes, comparables à des graines de haricots rougeâtres de 8 à 16mm de long, vivent fixés dans les bronchioles. Les œufs, non embryonnés à la ponte, sont rejetés dans les expectorations ou, après déglutition dans les selles. Ils éclosent dans l'eau douce, donnant naissance à des miracidiums qui continueront leur évolution dans un premier hôte intermédiaire : mollusque d'eau douce. Après s'y être multipliés et transformés, il en sortiront sous forme de cercaires qui iront poursuivre leur évolution, dans un deuxième hôte intermédiaire : crustacé d'eau douce, aboutissant au stade de métacercaire. Ce sont ces métacercaires, absorbées vivantes dans la chair crue ou mal cuite de ces crustacés, qui infestent l'homme ou les animaux réceptifs, se transformant en distomules qui gagnent les bronches en passant directement à travers la paroi intestinale, le péritoine, le diaphragme et le tissu pulmonaire, où elles deviennent adultes un mois après la contamination.

*Paragonimus westermani* est largement répandu en Asie : Japon, Chine, Corée, Vietnam, Cambodge, Philippines. Il parasite différents mammifères domestiques ou sauvages (félidés...). Les cas humains, plutôt sporadiques, se rencontrent dans des ethnies ayant des coutumes culinaires ancestrales : crabes, écrevisses ou crevettes d'eau douce, consommées crues.

Les signes cliniques et radiologiques simulent une tuberculose pulmonaire, associés à une hyperéosinophilie sanguine. Des migrations erratiques (cérébrales...) ont été rapportées. Le diagnostic de certitude repose sur la découverte des œufs dans les expectorations (parfois fortuitement en recherchant des bacilles de Koch) ou dans les selles. Le diagnostic sérologique n'a de valeur que si les techniques utilisent un antigène homologue.

Le traitement et la prophylaxie des paragonimoses reposent principalement sur l'administration de praziquantel (*Biltricide*®) et le changement des habitudes alimentaires.

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

## 2 - Echantillons MITHA et CORDA

### Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

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

Nom du parasite : *Isospora belli*

Stade : oocyste

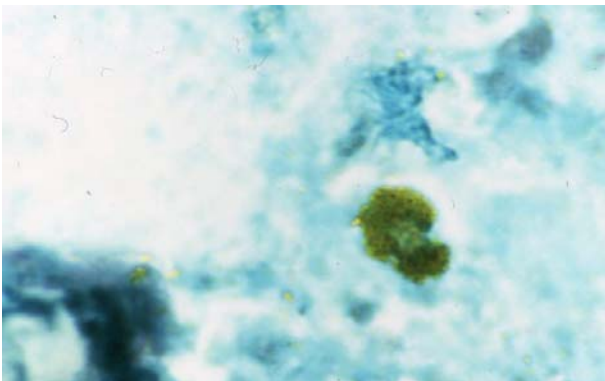
Richesse de la selle : 1 oocyste tous les 10 à 20 champs au X 40.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites dans les selles chez un malade atteint du SIDA présentant une importante diarrhée avec stéatorrhée.



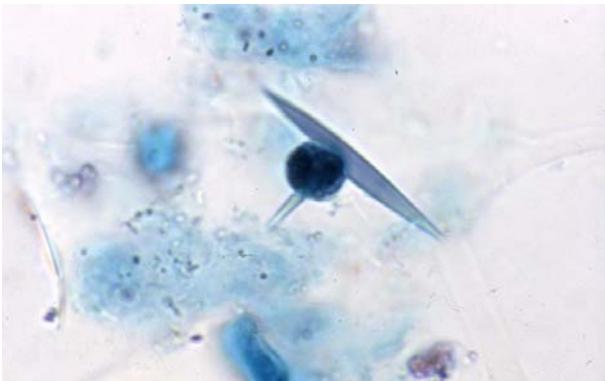
**Photo 4 :**

Oocyste d'*Isospora belli* avec 2 sporoblastes.  
Obj. X100



**Photo 5 :**

Polynucléaire éosinophile dans les selles.  
Coloration par le trichrome de Gomori :  
granulations jaunes.  
Obj. X100



**Photo 6 :**

Cristaux de Charcot-Leyden en formation à  
partir d'un polynucléaire éosinophile.  
Coloration par le trichrome de Gomori.  
Obj. X100

### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1280 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 trois envois précédents d'une selle contenant des oocystes d'*Isospora belli* sont rapportés dans le tableau X.

**Tableau IX – Ensemble des réponses des 1280 laboratoires participants.**

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Oocyste	<i>Isospora belli</i>	77,3	88,8 <b>soit 92,3% des 1232 laboratoires ayant rendu un diagnostic</b>
Kyste		5,3	
Oeuf		2,4	
Sporocyste		2,2	
Spore		0,8	
divers/non précisés		1,3	
divers/non précisés	<i>Cryptosporidium sp.</i>		3,5
divers/non précisés	Protozoaires divers		1,3
divers/non précisés	Helminthes divers		1,3
ABSENCE DE PARASITE			2,6
PAS DE REPONSE			0,8
EXAMEN TRANSMIS			3,0

**Tableau X - Bilan des quatre opérations de contrôle « Oocystes d'*Isospora belli* ».**

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>I. belli</i> »	« <i>Cryptosporidium</i> »	« absence de parasite »
2005	1280	10 - 20	88,8	3,5	2,6
2002	1328	10	92,7	2,2	0,9
1995	1256	10 - 20	55,7	20,1	9,8
1994	971	10 - 20	65,3	4,4	18,5

\* : nombre de champs Obj. X40 pour trouver un oocyste

## Commentaires

Les selles MITHA et KORDA contenaient des oocystes d'*Isospora belli*, diagnostiqués par neuf laboratoires participants sur dix. La présence fréquente de *Cryptosporidium* dans les selles de malades atteints du SIDA explique les quelques réponses erronées « *Cryptosporidium sp.* ». Le stade « oocyste » inhabituel pour les parasites intestinaux a été à l'origine de quelques confusions avec « kyste », « œuf » ou « sporocyste ». La selle était relativement riche (1 oocyste tous les 10 à 20 champs à l'objectif X 40).

Morphologie des oocystes d'*Isospora belli* : l'oocyste mesure de 20 à 30 µm X 10 à 15 µm, il est de forme allongée, asymétrique, avec une extrémité effilée, l'autre arrondie : aspect général en obus. A l'intérieur existe une cellule sphérique de 10 à 12 µm, le sporoblaste. Dans cette selle, on pouvait voir quelques oocystes avec 2 sporoblastes (photo 4) ainsi que quelques oocystes non fécondés totalement granuleux.

**L'éosinophilie dans l'isosporose** : les coccidies sont les rares protozoaires pour lesquels il existe une possibilité d'hyperéosinophilie sanguine associée. Dans les coccidioses intestinales, en particulier celles à *I. belli*, une éosinophilie intestinale est aussi généralement présente. On peut trouver celle-ci en pratiquant une coloration directe avec du trichrome de Gomori : une petite goutte de selle, une petite goutte de trichrome que l'on mélange sur une lame et que l'on recouvre avec une lamelle. Les nombreuses bactéries ne sont pas colorées comme avec le May-Grünwald-Giemsa. En cas de selle pathologique, liquide, coulante ou pâteuse chez un sidéen, la présence de polynucléaires éosinophiles dans celle-ci (ainsi que la présence de cristaux de Charcot-Leyden dans 40% des cas d'éosinophilie fécale) (photos 5 et 6) orientera vers *Isospora belli* et conduira à rechercher avec insistance ce parasite dont l'élimination est inconstante et irrégulière et le traitement très bénéfique au sidéen.

### 3 - Echantillons ELEGBE et SODATO

#### Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

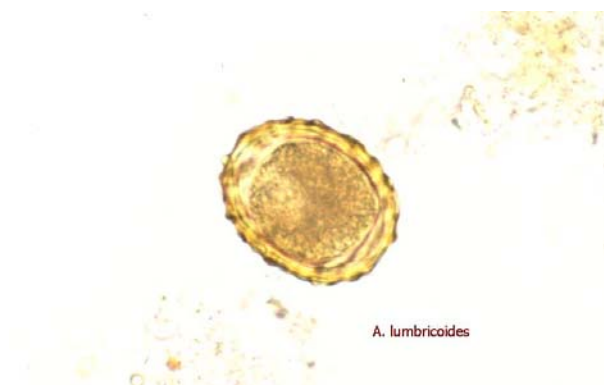
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg), Pr J.G. GOBERT (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Ascaris lumbricoides*

Stade : oeuf

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

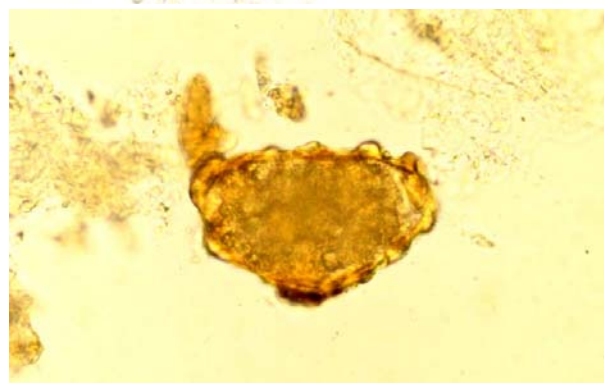
Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites chez une malade se plaignant de troubles intestinaux.



**Photo 7 :**

Œuf d'*Ascaris lumbricoides* typique.

Obj. X40



**Photo 8 :**

Œuf d'*Ascaris lumbricoides* non fécondé, rares mamelons peu colorés, forme triangulaire.

Obj. X40

#### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1254 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XI.

**Tableau XI** – Ensemble des réponses des 1254 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Kyste	<i>Ascaris lumbricoides</i>	93,7	95,2 <b>soit 97,9% des 1219 laboratoires ayant rendu un diagnostic</b>
Forme végétative		1,1	
divers/non précisés		1,2	
divers/non précisés	Protozoaires divers		1,2
divers/non précisés	Helminthes divers		1,2
ABSENCE DE PARASITE			0,5
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			2,2

## Commentaires

Les œufs d'*Ascaris* sont à la fois les plus faciles et les plus difficiles à reconnaître, car ils peuvent avoir toutes les formes, toutes les tailles, tous les aspects et parfois même toutes les couleurs.

Les œufs d'*Ascaris lumbricoides* fécondés rencontrés dans les selles sont des œufs bruns, ovoïdes, symétriques de 60 µm x 45 µm en moyenne, caractérisés par une double coque épaisse dont la plus externe est mamelonnée (photo 7). Certains de ces œufs peuvent perdre cette coque externe et sont alors plus petits et incolores.

Tous ces œufs contiennent une seule cellule ovulaire arrondie finement granuleuse qui ne remplit pas la totalité de l'œuf. Le diagnostic différentiel peut surtout se poser avec les pollens de chardon ou d'artichaut, mais l'aspect des ornements de ces derniers (petites pointes triangulaires sur la coque) et la taille (40 à 45 µm) permettent de faire le diagnostic.

Les œufs d'*Ascaris* infertiles ou non fécondés souvent atypiques s'observent quand il n'existe qu'une ou quelques femelles sans mâle dans l'intestin du malade. Les œufs sont souvent plus grands dans le sens de la longueur (80-100 µm), quelquefois déformés. La coque externe est le plus souvent insignifiante avec de rares mamelons à peine colorés. La coque interne est peu visible, mince et incolore, l'intérieur de l'œuf est rempli de granulations réfringentes de toutes tailles (photo 8).

Des selles polyparasitées contenant entre autres des œufs d'*Ascaris* ont été envoyées à plusieurs reprises dans le cadre du CNQ. Il s'agissait ici du deuxième envoi d'une selle contenant uniquement des œufs d'*Ascaris*. L'opération précédente, en 1998, avait conduit à un pourcentage de bonnes réponses quasi identique (93,9%).

Il faut rappeler qu'en France l'ascaridiose autochtone a disparu comme la trichocéphalose et l'ankylostomose. Les cas maintenant diagnostiqués sont des cas d'importation, dont celui qui a fait l'objet de cet envoi.

Il est à noter que l'ascaridiose fut très fréquente en France, avec par exemple 8% de selles positives pour ce nématode en 1921 dans la région marseillaise (Pringault *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1921, 14, 151).

P. JOUSSERAND et J.C. PETITHORY, Centre Hospitalier, Laboratoire de Parasitologie - Gonesse.

## Sérologie de la toxoplasmose

### Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2501 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0501-0502, 0503-0504, 0505-0506, 0507-0508, 0509-0510, 0511-0512 ont été proposés.

La concentration en IgG spécifiques était nulle pour les échantillons 0505-0506 et 0509-0510 et variable pour les quatre autres échantillons (à noter que les échantillons 0501-0502 et 0503-0504 étaient identiques). 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 les groupes supérieurs 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 une 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, 2355 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (70,1%), soit avec deux réactifs (29,9%).

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

Les conclusions (négatif ou limite ou positif) rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 0505-0506 et 0509-0510 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XIII.

Pour chacun des trois autres échantillons qui contenaient des IgG anti-toxoplasme à des concentrations diverses, les résultats des titrages IgG ainsi que les conclusions données par les laboratoires en fonction de la technique utilisée sont rapportés dans les tableaux XIV à XVI. L'analyse détaillée des faux négatifs est fournie dans le tableau XVII. Enfin, la dispersion des titres obtenus par les réactifs immunoenzymatiques pour chacun des onze échantillons « IgG positifs » des trois dernières opérations de contrôle (04PAR1, 04PAR2 et 05PAR1) est illustrée par la figure 1.

**Tableau XII - Réactifs utilisés**

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<b><u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u></b>	<b>2415 (79%)</b>
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	1161
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	761
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	203
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	103
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	58
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	39
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	31
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	26
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmosse IgG"	10
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	9
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	5
DPC France "Immulite toxoplasmosse G"	4
SFRI "Toxo IgG"	2
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	1
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	1
TOSOH BIOSCIENCE "AIA Pack toxoplasma IgG 2V"	1
<b><u>LATEX :</u></b>	<b>432 (14,1%)</b>
FUMOUCHE "Toxolatem"	293
BIORAD "Pastorex Toxo"	98
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	24
SERVIBIO "Servitex Toxo"	17
<b><u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u></b>	<b>75 (2,5%)</b>
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	74
DADE BEHRING "Cellognost toxoplasmosis H"	1
<b><u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u></b>	<b>63 (2,1%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	60
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	3
<b><u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u></b>	<b>52 (1,7%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	9
<b><u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u></b>	<b>9 (0,3%)</b>
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	9
<b><u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u></b>	<b>12 (0,4%)</b>
<b>Total</b>	<b>3058 (100%)</b>



**Tableau XIII** – Echantillons négatifs 0505-0506 et 0509-0510

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1586	301	51	44	32	8	12	2029
Limite	1	1						2
Positif	7	1		1				9
total	1594	303	51	45	32	8	12	2040

**Tableau XIV** – Echantillon 0501-0502 et 0503-0504

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	Total (%)
Négatif	3	1						4
Limite	2	4			1			7
Positif	1613	260	51	38	29	2	8	2001
total	1618	265	51	38	30	2	8	2012

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

	Hémaggl.	IFI
n	37	27
mTr	23	31
CV Tr (%)	15	12
Intervalle 2 écart-types	9 - 59	14 - 73

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	767	742	28,1	2,9	10,3
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	507	494	13,1	2,0	15,3
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	148	141	22,1	2,7	12,2
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	74	70	28,8	2,6	9,0
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	44	42	63,3	1,9	3,0
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	27	26	35,4	7,6	21,4
DPC France "Immulinite 2000 toxoplasmose G"	22	20	25,2	2,1	8,3
<i>Tous réactifs confondus *</i>	1611	1561	22,3	7,4	33,2

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

**Tableau XV** – Echantillon 0507-0508

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	<b>6</b>	<b>1</b>						<b>7</b>
Positif	789	142	24	23	15	3	6	1002
total	795	143	24	23	15	3	6	1009

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	23	22	13
m Tr	51	63	43
CV Tr (%)	12	17	16
intervalle 2 écart-types	19 - 134	15 - 274	13 - 139

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	368	351	71,5	7,7	10,7
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	262	255	25,0	3,2	12,8
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	70	67	41,9	4,6	11,0
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	34	33	65,0	5,3	8,2
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	22	20	126,1	2,3	1,8
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	13	12	70,1	4,8	6,8
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	7	7	NC	NC	NC
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>789</i>	<i>762</i>	<i>52,5</i>	<i>22,8</i>	<i>43,4</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 XVI** – Echantillon 0511-0512

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>1</b>					<b>6</b>
Positif	800	150	23	24	17	5	2	1021
total	802	153	24	24	17	5	2	1027

Titres obtenus pour les techniques non immunoenzymatiques :

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	26	18	12
m Tr	29	33	19
CV Tr (%)	14	7	20
intervalle 2 écart-types	11 - 74	20 - 56	6 - 60

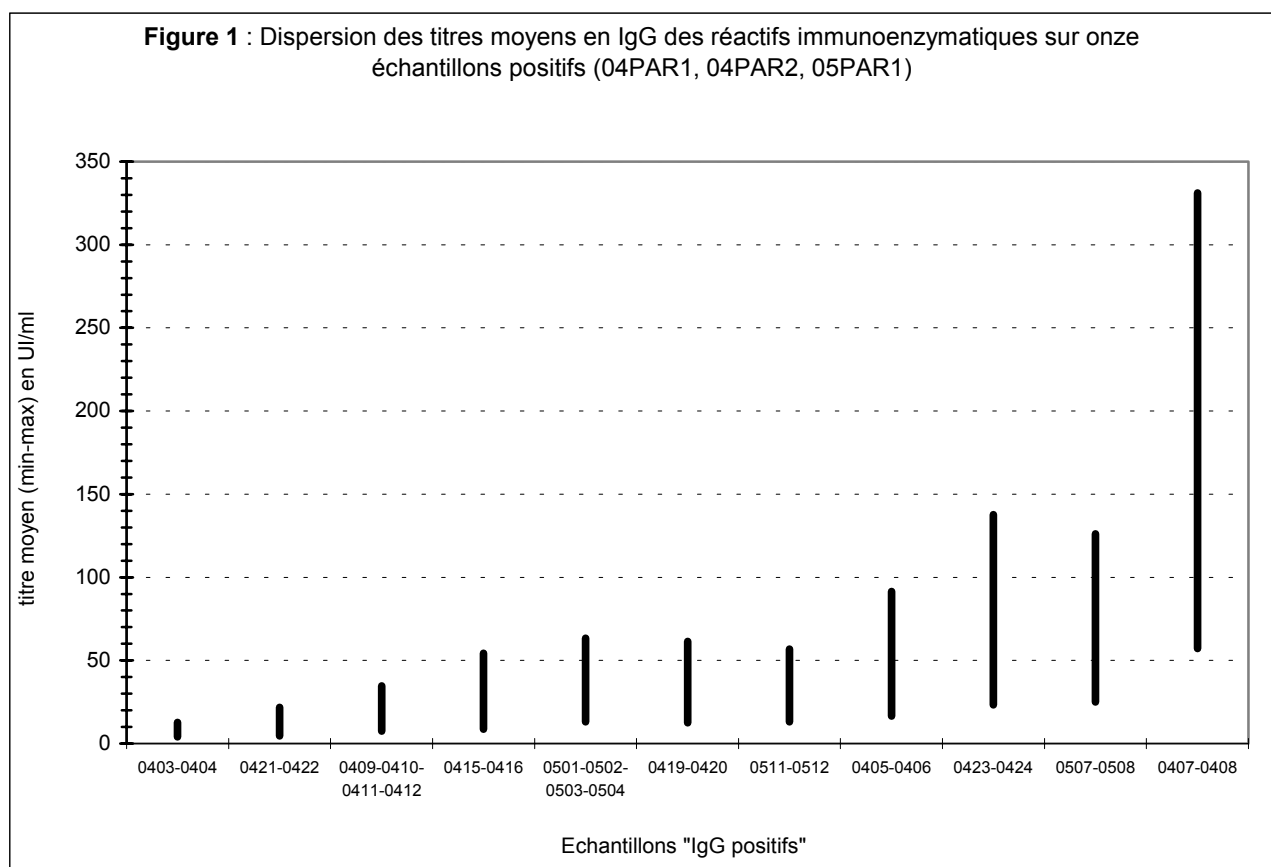
Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	402	385	38,9	4,3	11,1
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	240	232	13,0	1,8	13,6
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	58	56	23,8	3,0	12,4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	32	30	37,5	3,2	8,4
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	15	15	36,2	3,3	9,1
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	14	14	56,8	2,1	3,8
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	10	10	52,3	6,1	11,7
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>791</i>	<i>775</i>	<i>29,7</i>	<i>12,8</i>	<i>43,3</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 XVII** – Détail des conclusions « négatif » rendues sur les trois échantillons positifs

	Echantillons		
	0501-0502 et 0503-0504	0511-0512	0507-0508
Titre moyen (UI/ml) en IE	22	30	53
Nb conclusion « négatif »	4 (0,2%)	6 (0,6%)	7 (0,7%)
- due à une inversion probable d'échantillon	0	3	2
- due à une interprétation erronée du titre	2	-	3
- vrais négatifs	2	3	2



## 2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 2340 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (90,3%), soit avec deux réactifs (9,7%).

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

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

**Tableau XVIII – Réactifs utilisés**

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<b><u>IMMUNOENZYMOLOGIE :</u></b>	<b>2382 (92,8%)</b>
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	1155
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	756
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	200
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	100
BAYER "ToxoM/ADVIA Centaur"	54
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse M"	39
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	31
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	13
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	10
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	8
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmosse IgM"	7
DPC France "Immulite toxoplasmosse M"	4
SFRI "Toxo IgM EIA"	3
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	1
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	1
<b><u>LATEX :</u></b>	<b>70 (0,7%)</b>
FUMOUCHE "Toxolater"	45
BIORAD "Pastorex Toxo"	18
SERVIBIO "Servitex Toxo"	5
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	2
<b><u>HEMAGGLUTINATION :</u></b>	<b>39 (1,5%)</b>
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<b><u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE :</u></b>	<b>38 (1,5%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<b><u>ISAGA :</u></b>	<b>22 (0,9%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<b><u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE :</u></b>	<b>5 (0,2%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<b><u>REACTIF autre ou non précisé :</u></b>	<b>10 (0,4%)</b>
Total	2566 (100%)

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

Echantillons 0501-0502 et 0503-0504

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	1586	19	14	12	6	2	6	1645
Limite					1			1
Positif	3	4			2			9
Total	1589	23	14	12	8	2	6	1655

## Echantillons 0505-0506 et 0509-0510

Technique / Conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	IFI	ISAGA	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	1576	54	25	31	15	3	6	1710
Total	1576	54	25	31	15	3	6	1710

## Echantillon 0507-0508

Technique / Conclusion	IE	Latex	IFI	Hémaggl.	ISAGA	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	796	14	14	10	5	2	3	844
Positif	1	4						5
Total	797	18	14	10	5	2	3	849

## Echantillon 0511-0512

Technique / Conclusion	IE	IFI	Latex	Hémaggl.	ISAGA	NP	Total
Négatif	785	16	10	9	7	2	829
Limite			1				1
Positif	1		2		1		4
Total	786	16	13	9	8	2	834

### 3 - Cas clinique

Depuis la deuxième opération de contrôle de l'année 2004 (04PAR2), le cas clinique suivant : « prélèvement d'un patiente en début de grossesse pour la détermination de son statut sérologique (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial) » accompagne chaque échantillon.

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 ; le biologiste propose les modalités de suivi sérologique éventuel. »

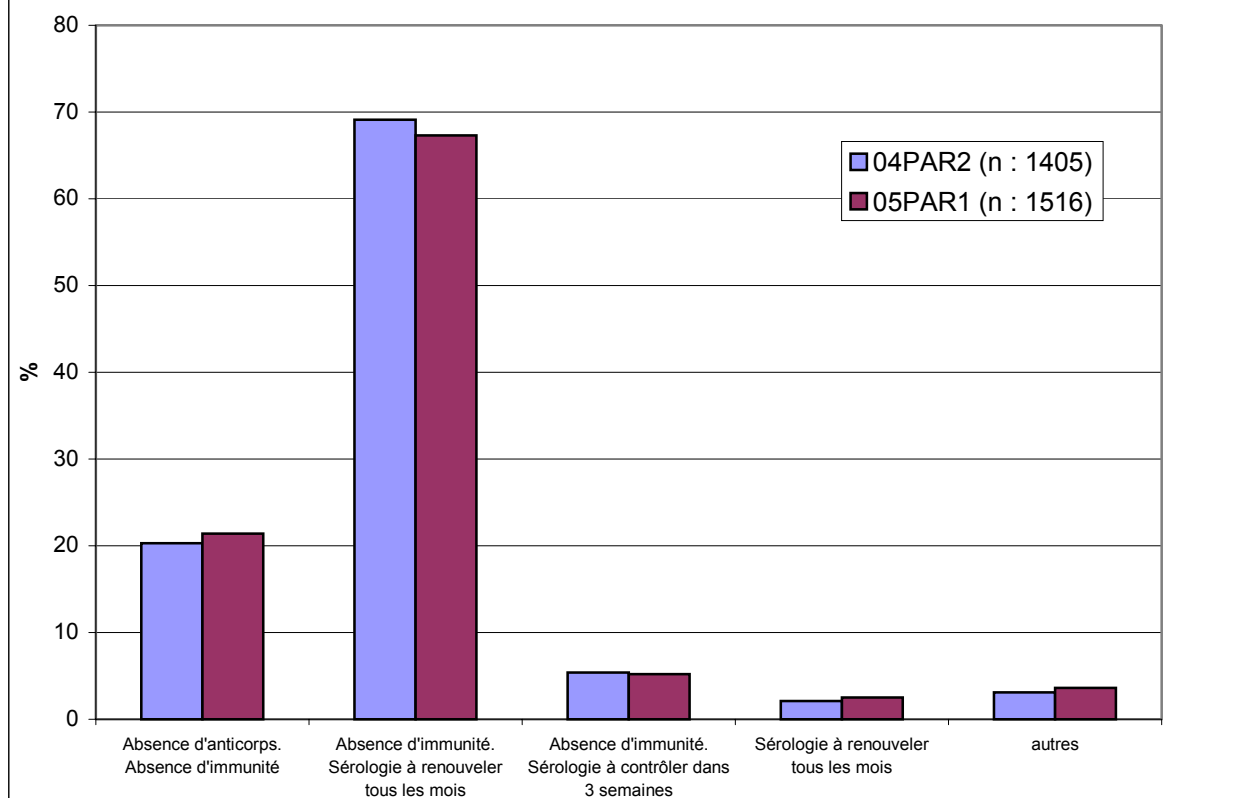
Dans le cadre du contrôle national de qualité, neuf conclusions sont proposées au choix du biologiste qui peut les associer par deux (tableau XX).

Lors des deux opérations de contrôle 04PAR2 et 05PAR1, les conclusions choisies par les biologistes pour les échantillons « IgG et IgM négatifs » sont illustrées figure 2 tandis que les conclusions apportées pour les six échantillons « IgG positif et IgM négatif » sont détaillées dans le tableau XXI.

**Tableau XX – Conclusions au choix**

CODE	Conclusions
TOX A	Absence d'anticorps. Absence d'immunité.
TOX B	Taux limite. Patiente à considérer comme non immunisée.
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 F	Sérologie à renouveler tous les mois.
TOX G	Sérologie à contrôler dans 1 semaine.
TOX H	Sérologie à contrôler dans 3 semaines.
TOX I	A confirmer par une nouvelle sérologie.

**Figure 2 : Conclusions des biologistes pour les patientes "IgG et IgM négatives"**



**Tableau XXI – Conclusions des biologistes pour les six échantillons « IgG positif et IgM négatif »**

échantillon	0415-0416	0501-0502 0503-0504	0419-0420	0511-0512	0423-0424	0507-0508
opération	04PAR2	05PAR1	04PAR2	05PAR1	04PAR2	05PAR1
titre moyen en IgG (UI/ml)	15,8	22,3	24,3	29,7	44,3	52,5
Effectif (conclusion)	714	1450	722	750	715	723
% conclusion :						
<b>TOX C + (TOX H ou TOX I)</b>	<b>65,2</b>	<b>56</b>	<b>67,2</b>	<b>65,7</b>	<b>55,7</b>	<b>68,1</b>
TOX C "immunité ancienne probable"	20	26,3	21,3	21,7	30,1	19,4
TOX H "sérologie à contrôler dans 1 semaine"	8,6	12,8	6,8	8,4	10,2	7,9
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	1,5	2,4	1,1	2,5	1,8	2,4
autres	4,7	2,5	3,6	1,7	2,2	2,2

## Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, l'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0505-0506 et 0509-0510 montre neuf (0,4%) faux positifs, dont cinq dus à une inversion probable d'échantillons (tableau XIII). Les quatre erreurs restantes sont le fait de trois laboratoires. Il n'existe pas de relation entre le réactif utilisé et la fréquence des faux positifs observée.

Avec les trois échantillons positifs, on note 17 fausses conclusions « négatif » dont 5 dues à une probable inversion d'échantillon et 5 dues à une interprétation erronée d'un titre franchement positif. Les 7 erreurs restantes concernent 5 laboratoires (tableau XVII). Toutefois, 3 d'entre eux ont testé l'échantillon avec deux réactifs et ont conclu « négatif » avec l'un et « positif » avec l'autre. Ce qui dans leur pratique courante, les aurait amené à tester un troisième réactif ou à effectuer un second prélèvement.

D'autre part, l'étude des titres obtenus pour les onze échantillons « IgG positifs » des trois dernières opérations de contrôle montre une dispersion importante des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques. En effet, la moyenne des coefficients de variation tous réactifs confondus varie de 31% pour le titre le plus faible (6,4 UI/ml) à 49% pour le titre le plus élevé (146,9 UI/ml) (figure 1) (cf annales 04PAR1 et 04PAR2).

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

Si l'on considère de façon globale les résultats des 5048 tests réalisés par l'ensemble des 2340 laboratoires qui effectuent la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 18 (0,4%) conclusions incorrectes « positif » dont le détail est le suivant : 8 latex (5 toxol latex FUMOUCHE, 3 Pastorex BIORAD), 5 ELISA (4 Vidas toxo compétition BIOMERIEUX, 1 Axsym ABBOTT), 4 hémagglutination (Toxo HAI FUMOUCHE) et 1 ISAGA (Toxo ISAGA BIOMERIEUX). Ces conclusions incorrectes sont concentrées sur deux techniques : le latex et l'hémagglutination avec respectivement 7,6 et 6% de faux positifs.

On remarquera que de façon habituelle, les échantillons IgG « négatif » ont tous été trouvés IgM « négatif ».

En ce qui concerne le pourcentage de laboratoires ayant apporté une conclusion à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM sur chaque échantillon, on constate une nette amélioration puisqu'il passe de 90,5% lors de la première enquête (04PAR2) à 95,1% pour cette deuxième enquête (05PAR1).

Pour les quatre échantillons « IgG et IgM négatifs » (deux lors de l'opération 04PAR2 et deux lors de l'opération 05PAR1), on note que sur les 2921 laboratoires concernés :

- 68,2% ont rendu la conclusion attendue : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois » (TOX A + TOX F) (figure 2),
- 23,2% ont rendu soit TOX A seule, soit TOX F seule,
- 5,3% ont rendu une interprétation très proche, également considérée comme correcte : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX A + TOX H).

Pour les six échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue : « Immunité ancienne probable » + « sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX C + TOX H) ou bien « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX C + TOX I) a été rendue par 55,7 à 68,1% des laboratoires, selon l'échantillon considéré. Cependant, on n'observe pas de lien entre le titre moyen en IgG de l'échantillon et le pourcentage d'interprétations correctes (tableau XXI).

Enfin, le statut d'immunité ancienne (TOX C) hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif » est signalé en moyenne par près de 87% des laboratoires.

En ce qui concerne l'unique échantillon « IgG positif limite et IgM négatif » (échantillon 0421-0422 proposé lors de l'opération 04PAR2), trois possibilités peuvent être envisagées :

- soit le titrage des IgG est positif et l'on est ramené au cas précédent avec TOX C + (TOX H ou TOX I) comme conclusion attendue. 30% des laboratoires ont choisi cette interprétation et d'une façon plus large 40% ont conclu à une immunité ancienne probable pour cet échantillon (TOX C seul ou associé à un autre code).
- soit le titrage des IgG est limite ou douteux (zone grise) et la conclusion attendue est : « Taux limite. Patient à considérer comme non immunisée » + « sérologie à renouveler tous les mois » (TOX B + TOX F) ou bien « Taux limite. Patient à considérer comme non immunisée » + « sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX B + TOX H). Près de 30% des laboratoires ont choisi cette interprétation et d'une façon plus générale, 40% ont signalé un taux limite d'IgG pour cet échantillon à considérer comme négatif (TOX B seul ou associé à un autre code).
- soit le titrage des IgG est positif avec un réactif et négatif avec un autre. Dans ce cas, la conclusion attendue est : « Discordance entre deux techniques. Une nouvelle sérologie est nécessaire pour conclure » (TOX E). Seuls 23 laboratoires (3,3%) ont fait état de ce problème.

Enfin, 16% ont indiqué qu'une nouvelle sérologie est nécessaire sans toutefois se prononcer sur le statut immunitaire de la patiente (TOX H ou TOX I).

## Sérologie de la trichinose

### Définition des échantillons

Proposée pour la seconde fois (envoi précédent en 2000), cette analyse a été effectuée sur deux sérums lyophilisés : E12 (positif) et E54 (négatif).

Le sérum positif, identique à celui adressé en 2000 provient d'un homme de 45 ans contaminé pendant la dernière semaine de juillet 1985 par ingestion de viande de cheval lors de l'épidémie de trichinose de Melun due à *Trichinella murelli*. Le prélèvement a été effectué 9 mois après la contamination et le traitement.

Les résultats obtenus sur cet échantillon par les experts - Dr PETITHORY (Gonesse), Pr DUPOUY-CAMET (Paris), Pr KIEN (Strasbourg), Pr AMBROISE-THOMAS (Grenoble), Pr SEGUELA (Toulouse), Pr GARIN (Lyon), Pr WATTRE (Lille), Pr WEISS (Bale) – en 1990 sont les suivants :

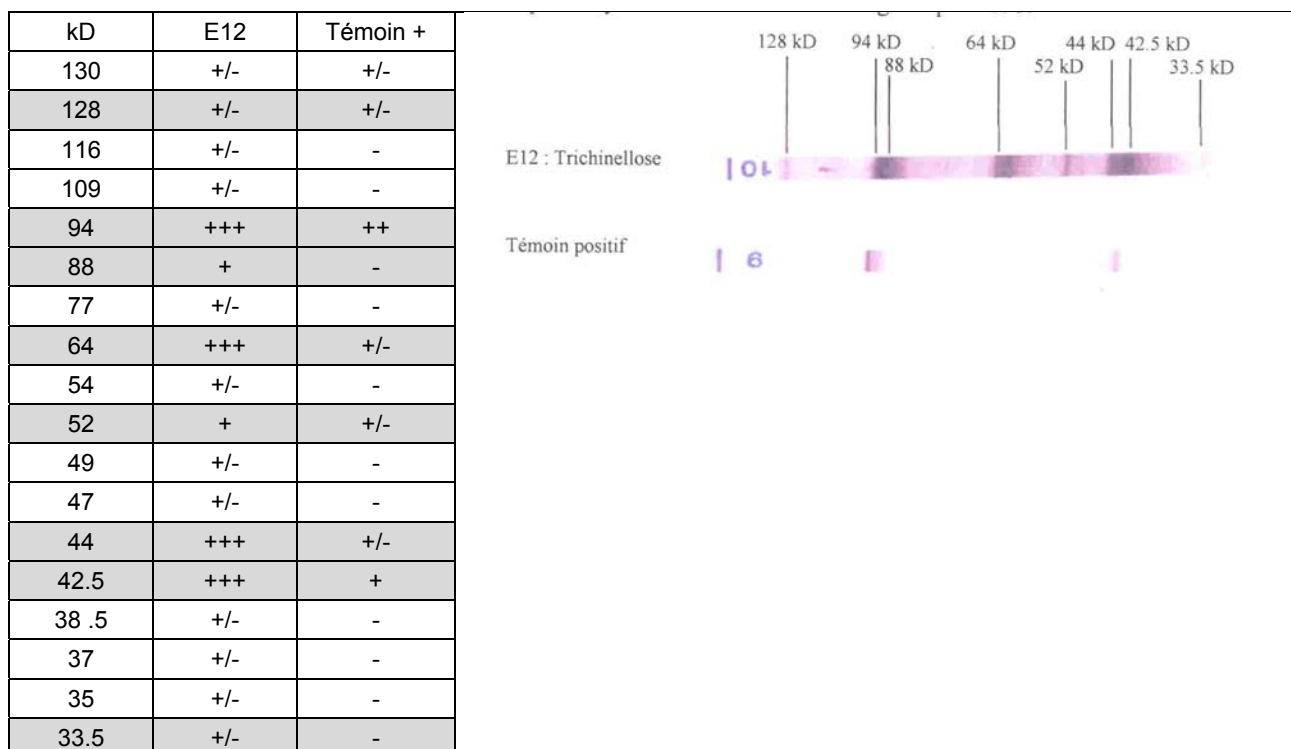
< Antigène homologue (stade larvaire *Trichinella spiralis*)

techniques	Nombre de tests	conclusion	
		positif	négatif
IFI	8	6	2
immunoélectrophorèse	3	2	1
ELISA	1	1	

< Antigènes de nématodes : les antigènes de huit nématodes ont été testés par différentes techniques (tableau ci-dessous). Aucune réaction croisée n'a été constatée par les experts.

nématodes	techniques				
	IFI	ouchterlony	électrosynérèse	immunoélectrophorèse	hémagglutination
<i>Ascaris suum</i>	3	2	2		
<i>Toxocara canis</i>	3				
<i>Fasciola hepatica</i>	3	1	1	3	2
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1				
<i>Onchocerca volvulus</i>	1				
<i>Anisakis simplex</i>		1			
<i>Schistosoma mansoni</i>			1		1
Liquide hydatique				1	

< Western blot réalisé avec le réactif LD BIO diagnostics et lu par un système BIOPRINT® avec logiciel phorèse® : le profil caractéristique avec une bande à 64 kD et le doublet 44-43kD confirme la trichinellose.





## Résultats des participants

Les deux échantillons ont été adressés aux 36 laboratoires ayant déclaré réaliser la sérologie de la trichinose. Six d'entre eux ont indiqué transmettre désormais cette analyse et deux ont renvoyé un bordereau réponse sans résultat ni commentaire. Par conséquent, cette étude a porté sur les résultats obtenus par 28 laboratoires, soit 7 de moins qu'en 2000.

Le bilan des techniques et réactifs employés par les laboratoires participants montre que la moitié d'entre eux réalise une seule technique, douze utilisent deux techniques (7 de façon systématique, 5 uniquement pour l'échantillon positif) et deux utilisent trois techniques (1 de façon systématique, 1 uniquement pour l'échantillon positif). Dans tous les cas, il s'agit d'une technique ELISA éventuellement complétée par une ou deux autres techniques dont un western blot le plus souvent.

La place occupée par chaque technique dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie de la trichinose en 2000 et cinq ans plus tard en 2005 est détaillée dans le tableau XXII. On observe, à l'exception de l'ELISA qui se maintient, une baisse nette des méthodes d'immunoprécipitation en milieu gélifié, très contraignantes, ainsi que de l'immunofluorescence indirecte, au profit du Western blot.

Des antigènes homologues « maison » sont employés pour les techniques d'immunoprécipitation et d'immunofluorescence indirecte. En revanche, tous les laboratoires qui font un Western blot utilisent le seul réactif commercialisé « Trichinella western blot IgG kit » de LD BIO Diagnostics. De la même façon, l'ensemble des tests ELISA ont été réalisés avec le réactif « Trichinose-sérologie » de BIOTRIN INT. à l'exception d'un laboratoire qui utilise le réactif « trichinella spiralis IgG ELISA » d'IBL.

Les conclusions rendues par les laboratoires participants pour l'échantillon positif E12 et pour l'échantillon négatif E54 en fonction de la technique employée sont rapportées dans le tableau XXIII.

**Tableau XXII** - Part des différentes techniques utilisées par les laboratoires en 2000 et en 2005

Techniques	2000 (%)	2005 (%)	Evolution
ELISA	61,3	59,1	ú
Western blot	2,0	25,0	ú ú ú
Electrosynérèse	6,1	0	ú ú
Immunoélectrophorèse	6,1	2,3	ú
Immunofluorescence indirecte	24,5	13,6	ú

**Tableau XXIII** - Conclusions des laboratoires en fonction de la technique utilisée

Techniques	Echantillon E12			Echantillon E54		
	Nb de réponses	Négatif	Positif	Nb de réponses	Négatif	Limite
ELISA	26	-	26	26	25	1
Western blot	11	-	11	6	6	-
Immunofluorescence indirecte	6	-	6	6	6	-
Immunoélectrophorèse	1	-	1	-	-	-
Total	44	0 (0%)	44 (100%)	38	37 (97,4%)	1 (2,6%)

## Commentaires

La trichinose (ou trichinellose) est une zoonose transmise à l'homme par la consommation de viande (cheval, sanglier, porc) peu ou non cuite contenant des larves encapsulées du nématode *Trichinella* sp. En France, plus de 2400 cas ont été rapportés depuis 25 ans.

Chez l'homme, la maladie se traduit par de la fièvre, des myalgies ou un œdème de la face ou des manifestations allergiques associés à une hyperéosinophilie sanguine et une élévation des enzymes musculaires. La sérologie est un élément déterminant du diagnostic (anticorps présents à J+15).

La trichinellose humaine, en tant que TIAC (toxi-infection alimentaire collective) est une maladie à déclaration obligatoire. Le laboratoire de parasitologie du Centre Hospitalier COCHIN (Paris) est depuis 2002, le Centre National de Référence *Trichinella*.

La nomenclature des actes de biologie médicale qui impose un test de dépistage par au moins une technique parmi les suivantes : électrosynérèse, hémagglutination, ELISA, IFI, Ouchterlony et un test de confirmation par immunoelectrophorèse semble obsolète au vu des techniques utilisées par les laboratoires ayant participé à cette opération de contrôle.

On note une amélioration sensible des résultats par rapport à l'opération réalisée en 2000. En effet, 100% des 44 tests réalisés sur l'échantillon E12 sont « positif » (tableau XXIII) contre 89,1% de « positif » et 10,9% de « limite » précédemment sur le même échantillon. Les conclusions « limite » avaient été rendues en 2000 par ordre de fréquence décroissant par les techniques d'électrosynérèse (2/3), d'immunoelectrophorèse (1/3) et d'immunofluorescence (2/11) qui sont de moins en moins utilisées.

En ce qui concerne l'échantillon négatif E54, la seule conclusion « limite » a été rendue par le laboratoire ayant utilisé le réactif IBL. En 2000, un seul faux positif (ELISA Biotrin) avait été noté.

## Bibliographie

1 - Andiva S., Yera H., Haeghebaert S., Tourte-Schaefer C., Magnaval JF, Dupouy-Camet J., Evaluation comparative d'un test d'agglutination au latex, de deux tests ELISA et d'un Western blot pour le diagnostic sérologique de la trichinellose humaine. *Ann. Biol. Clin.* 2002, 60 (1) : 79-83.

2 - Dupouy-Camet J., Kociecka W., Bruschi F., Bolas-Fernandez F., Pozio E., Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis. *Expert. Opin. Pharmacother.* 2002, 3(8) : 1117-1130.

3 - Year H., Andiva S., Perret C., Limonne D., Boireau P., Dupouy-Camet J., Development and evaluation of a Western blot kit for diagnosis of human trichinellosis., *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 2003, 10(5) : 793-796.