

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Frottis sanguin
Coprologie parasitaire
Mycologie
Sérologie de la toxoplasmose
Sérologie du paludisme

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

Expédition : 26 novembre 2008

Clôture : 22 décembre 2008

Edition des compte-rendus individuels : 12 mars 2009

Paramètres contrôlés :

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

Coprologie : *Giardia intestinalis*, *Entamoeba coli*, *Endolimax nanus*

Mycologie : *Aspergillus nidulans* ou *Fusarium sp.*, *Trichophyton rubrum* var africaine, *Candida krusei*.

Sérologie de la toxoplasmose

Sérologie du paludisme

Nombre de laboratoires concernés* : 3971

Nombre de laboratoires participants** : 3875

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

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

Résumé de l'opération

A l'occasion de cette opération de contrôle, deux frottis de paludisme ont été adressés aux laboratoires. Le premier, avec environ 3,8% d'hématies parasitées par des trophozoïtes de *Plasmodium falciparum* a conduit à 92,3% de diagnostics d'espèce corrects : pourcentage identique à ceux obtenus lors des deux envois précédents en 2004 et 2005 d'un frottis similaire.

Le second frottis était faiblement parasité par *P.vivax* (parasitémie : 0,02%), ce qui explique le pourcentage non négligeable (16%) de réponses « absence de parasite ». De plus, la présence sur le frottis d'un seul stade de maturation (trophozoïte jeune) a conduit à une confusion avec *P. falciparum* dans un tiers des cas. Au total, 36% des participants ont diagnostiqué à part égale soit « *P.vivax* », soit « *P.ovale* » ; deux réponses acceptables du fait de l'impossibilité de distinguer ces deux espèces sur le frottis.

La coprologie parasitaire comportait, pour la première fois, des selles contenant non seulement des kystes mais aussi des formes végétatives de *Giardia intestinalis*. Ce protozoaire de diagnostic aisé a été reconnu par 9 laboratoires sur 10. De la même façon, l'identification des kystes d'*Entamoeba coli*, régulièrement proposés dans le cadre du CNQ, n'a pas posé de problème. Quant aux kystes d'*Endolimax nanus*, souvent rencontrés au cours d'un examen parasitologique des selles, ils ont été vus par près de 60% des participants ce qui représente le meilleur score de ces dix dernières années.

En ce qui concerne la mycologie, une partie du lot « *Aspergillus nidulans* » a été contaminée par un *Fusarium* durant son stockage avant envoi. Par conséquent, afin de ne pas pénaliser les laboratoires concernés par cette contamination, la réponse attendue pour ce lot était la suivante « *Aspergillus nidulans* ou *Fusarium sp.* ».

Une souche de dermatophyte, *Trichophyton rubrum* variété africaine, était également proposée. Un peu plus d'un laboratoire sur deux a correctement identifié cette souche « exotique », dont l'aspect diffère de celui des souches autochtones mais qu'il convient de connaître.

Enfin, on note 76% de bons diagnostics pour *Candida krusei*, ce qui est un score habituel pour cette levure.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2229 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 observe une dispersion importante des titres moyens obtenus avec les différents réactifs immunoenzymatiques.

En ce qui concerne la sérologie du paludisme, l'échantillon positif proposé a été détecté comme tel par l'ensemble des 49 laboratoires ayant réalisé cette analyse.

Frottis sanguin

1 - Echantillons LESUR ou KUGEL

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG.

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

Nom du parasite : *Plasmodium vivax*

Stade : Trophozoïtes et rares gamétocytes

Richesse du frottis : 0,02% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient fébrile depuis 48 heures qui a séjourné pendant une semaine au Mali pour voyage d'affaires. Prophylaxie par Doxypalu® bien suivie.

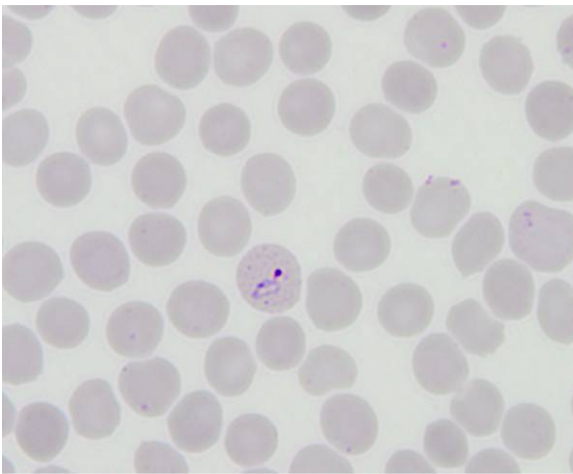


photo 1. Un trophozoïte, hématie de grande taille, cytoplasme fin, fines granulations dans le cytoplasme de l'hématie, (MGG x1000, M. Thellier).



photo 2. Un trophozoïte (MGG x1000, M. Thellier).

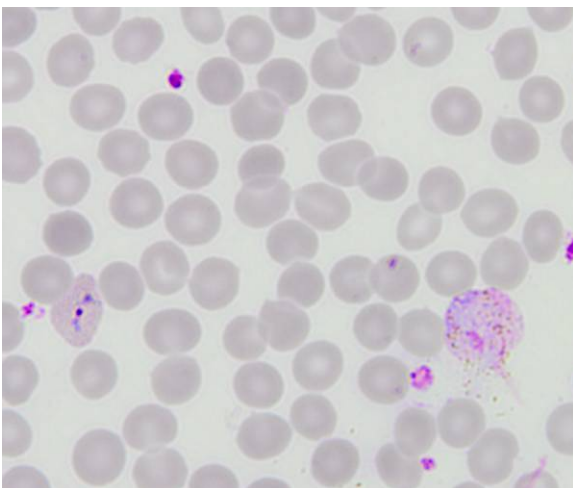


photo 3. Un trophozoïte et un gamétocyte. (MGG x1000, M. Thellier).

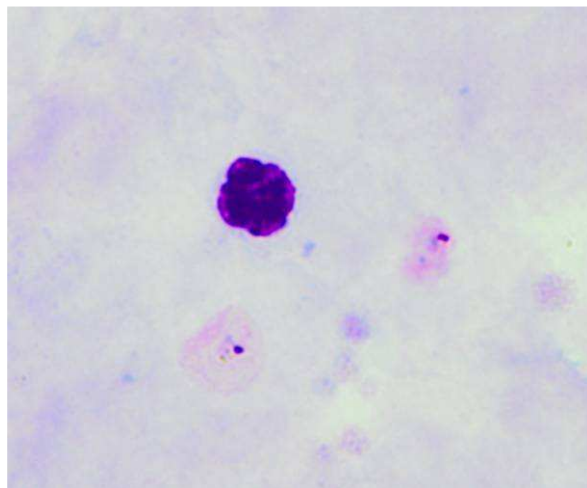


photo 4. Goutte épaisse : deux trophozoïtes avec un cytoplasme fin et un « fantôme d'hématie » rose. (M. Thellier).

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1207 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. vivax* sont rapportés dans le tableau II.

tableau I - Ensemble des réponses des 1207 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoites	P. vivax	86,5	18,3 soit 19,4% des 1147 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Schizontes jeunes		22,5	
Schizontes âgés		29,3	
Gamétocytes		29,7	
divers/non précisés		0,9	
Trophozoites	P. falciparum	91,2	32,8
Schizontes jeunes		10,3	
Schizontes âgés		9,6	
Gamétocytes		5,3	
divers/non précisés		0,8	
Trophozoites	P. ovale	90,5	17,4
Schizontes jeunes		13,8	
Schizontes âgés		15,2	
Gamétocytes		28,1	
divers/non précisés		0,4	
Trophozoites	P. malariae	88,7	9,5
Schizontes jeunes		17,4	
Schizontes âgés		29,6	
Gamétocytes		28,7	
divers/non précisés		1,7	
Trophozoites	<i>Plasmodium sp.</i>		0,8
Absence de parasite			16,5
Parasites divers			< 0,1
PAS DE REPONSE			2,5
EXAMEN TRANSMIS			4,0

tableau II - Bilan des six opérations de contrôle « *Plasmodium vivax* ».

Année	% hématies parasitées	% <i>P. vivax</i>	% <i>P. ovale</i>	% <i>P. falciparum</i>	% <i>P. malariae</i>	% absence parasite	% « transmis » ou absence de réponse
2008	0,02	18,4	17,4	32,8	9,5	16,5	6,5
2003	2	76,1	17,8	6,1	0,5	0	1,7
1999	0,3 - 0,6	72,3	16,3	5,9	2,9	0,4	2,0
1997	0,5 - 2	82,0	10,1	2,6	3,4	0,6	1,3
1996	0,1	80,4	12,6	3,8	2,2	0,5	1,3
1991	0,2 - 0,8	73,9	8,1	14,5	4,1	0,7	1,5

Commentaires

Il s'agit d'un diagnostic d'espèce particulièrement difficile issu d'une situation réelle.

Le frottis sanguin mince (FSM) est faiblement positif puisque l'on observe environ une hématie parasitée pour 20-30 champs microscopiques à l'objectif 100 (0,02% de trophozoïtes jeunes).

Ces trophozoïtes jeunes, au même stade de maturation ont un cytoplasme fin avec parfois des expansions cytoplasmiques (photos 1 et 2). Les hématies parasitées sont de grandes taille et on observe parfois la présence de fines granulations dans le cytoplasme de l'hématie (photos 1, 2 et 3).

De façon plus aléatoire, il est possible de repérer de rares gamétocytes, également dans des hématies de grandes taille. Ces hématies présentent de nombreuses granulations de Schüffner caractéristiques dans leur cytoplasme (photo 3).

La réponse attendue était, au minimum, « accès palustre sans identification d'espèce » et au mieux, « accès à *Plasmodium vivax* ou *Plasmodium ovale* » car il n'y a pas d'argument microscopique formel pour l'une ou l'autre de ces deux espèces.

Remarques :

L'observation attentive de plusieurs éléments au FSM et à la goutte épaisse (GE) oriente plutôt les microscopistes expérimentés vers un accès de reviviscence à *P. vivax*.

- reviviscence car les éléments asexués sont tous au même stade de développement (ici des trophozoïtes jeunes).

- *Plasmodium vivax* sur l'aspect du trophozoïte avec un cytoplasme fin qui a d'ailleurs été confondu fréquemment avec du *Plasmodium falciparum*.

La GE (échantillon non proposé dans cette opération de contrôle) est très contributive et facilite grandement le diagnostic différentiel avec *P. falciparum* (photo 4).

Ce diagnostic est confirmé par un test de détection antigénique (bandelette) de *P. vivax* (isoenzyme de la LDH Pv) et par PCR.

Ce diagnostic « colle » mal avec les renseignements cliniques fournis (cette situation n'est pas rare).

Les éléments à prendre en compte dans ce cas sont :

- le contage pour l'exposition décrite inférieur à 10 jours (peu compatible avec un accès palustre contracté à cette occasion),

- le sujet qui voyage pour des raisons professionnelles : il faut s'enquérir de l'existence d'autres voyages antérieurs (< 4 ans) en zone d'endémie (séjours multiples en Afghanistan et en Ethiopie dans le cas de ce patient),

- la chimioprophylaxie, adaptée à la zone d'endémie visitée et déclarée initialement bien suivie au médecin, a en fait été très mal suivie (reprise d'interrogatoire) comme c'est souvent le cas chez les sujets qui font un accès palustre prouvé microscopiquement.

En résumé :

Le diagnostic microscopique était particulièrement difficile.

La dissociation entre l'observation microscopique et les renseignements cliniques disponibles met l'accent sur le rôle du biologiste et sur l'importance du dialogue avec le clinicien au moment du rendu du résultat par téléphone (contact direct +++). Les éléments objectifs (observation microscopique) doivent faire reconsidérer certains éléments de l'anamnèse.

Dans ce type de situation, l'envoi à un centre référent et/ou l'utilisation de techniques complémentaires (détection antigénique, PCR) prennent toute leur importance.

Bibliographie

P. Gautret, F. Legros, P. Koulmann, M.H. Rodier, J-L. Jacquemin. Imported *Plasmodium vivax* malaria in France : geographical origin and report of an atypical case acquired in Central or Western Africa. Acta Tropica. 2001, **78**, 177-181.

2 - Echantillons BOURGET ou ATALI

Définition de l'échantillon

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

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient fébrile depuis 72 heures, de retour depuis 48 heures d'un séjour touristique de deux semaines au Sénégal. Prophylaxie par MALARONE bien suivie avec dernière prise médicamenteuse la veille.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1205 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau III.

Ces résultats, donnés à titre indicatif, ne font pas l'objet de commentaires. En effet, de très nombreux laboratoires ont signalé dès la réception de l'échantillon ou sur leur bordereau de réponse, la mauvaise qualité de la coloration du frottis qu'ils avaient reçu. Par conséquent, les réponses des laboratoires ne sont pas exploitées, du fait d'une coloration défectueuse d'une partie des frottis de ce lot.

tableau III - Ensemble des réponses des 1205 laboratoires participants.

STADE	NOM	%
« coloration défectueuse », « frottis illisible »		19,4
Absence de parasite		60,8
divers/non précisés	P. falciparum	7,4
divers/non précisés	P. vivax	1,6
divers/non précisés	P. malariae	1,4
divers/non précisés	P. ovale	0,9
Parasites divers		1,3
PAS DE REPONSE		1,6
EXAMEN TRANSMIS		4,5

3 - Echantillons RIOUF ou TOURE

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG.

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

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes, très rares gamétocytes

Richesse du frottis : 3,8% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : patient présentant de la fièvre depuis 4 jours au retour, il y a une semaine, d'un séjour de un mois en Côte d'Ivoire. Pas de chimioprophylaxie.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1220 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau IV.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P.falciparum* d'une richesse comparable et comportant uniquement le stade « trophozoïte » sont rapportés dans le tableau V.

tableau IV - Ensemble des réponses des 1220 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	93,8	92,3 soit 96,6% des 1192 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		8,3	
Schizontes âgés		2,7	
Gamétocytes		0,9	
divers/non précisés		0,4	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		0,2
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		0,8
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		1,3
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			0,4
PAS DE REPONSE			1,0
EXAMEN TRANSMIS			3,7

tableau V - Bilan de six opérations de contrôle « trophozoïtes *P. falciparum* » (parasitémie : 0,5 à 5%)

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
2008	1220	3 - 5	92,3	2,3	0,4	4,7
2005	955	4 - 6	92,9	5,5	0	2,2
2004	1266	2 - 3	92,0	5,4	0,6	2,2
2002	1326	1	70,7	27,7	0	3,7
1999	1316	0,5	57,5	41,9	0,15	1,8
1997	1281	1 - 3	84,1	13,9	1,1	1,5

Commentaires

Diagnostic d'espèce très facile issu d'une situation réelle.

Le frottis sanguin mince est fortement positif puisque l'on observe 6 à 10 hématies parasitées par champ microscopique à l'objectif 100 (3,8% de trophozoïtes jeunes). Ces trophozoïtes ont un cytoplasme fin. Des hématies de toutes tailles sont parasitées. On n'observe pas d'inclusions cytoplasmiques dans le cytoplasme des hématies parasitées.

La seule réponse attendue était « accès à *Plasmodium falciparum* ». Ce diagnostic est tout à fait cohérent avec les renseignements cliniques fournis.

Le pourcentage (92,3%) de diagnostic correct est stable par rapport aux deux opérations de contrôle similaires de 2005 et 2004. On note également une baisse sensible (- 3,2%) du nombre d'erreurs au niveau du diagnostic d'espèce. En revanche, quatre laboratoires n'ont pas « vu » de parasite et un laboratoire a confondu *P. falciparum* avec *Babesia sp.*

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon KHORE ou LOUYS

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

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

Nom du parasite : *Giardia intestinalis*

Stade : kystes + formes végétatives

Richesse de la selle : au moins un protozoaire par champ au X40

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen de selles systématique chez un cuisinier.



Photo 1 : trophozoïte de *Giardia intestinalis* (état frais, X630)

Résultats des participants

C'est la première fois qu'une selle contenant des formes végétatives en plus des kystes de *G.intestinalis* est adressée aux laboratoires inscrits en parasitologie.

L'ensemble des réponses transmises par les 1207 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VI.

tableau VI - Ensemble des réponses des 1207 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Kyste	<i>Giardia intestinalis</i>	97,1	90,0 soit 95,2% des 1141 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Forme végétative		70,9	
Stades divers/non précisés		1,9	
Autres flagellés			1,4
Amibes diverses			1,7
Autres protozoaires			0,3
Helminthes divers			1,2
Absence de parasite			1,5
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			5,0

Commentaires

Giardia intestinalis, autrefois appelé *Lamblia intestinalis* est un protozoaire flagellé qui vit dans l'intestin grêle (duodénum et jéjunum). C'est le seul flagellé véritablement pathogène. Il peut exister sous deux formes, le trophozoïte ou forme végétative et le kyste ou forme de résistance.

Le trophozoïte a une morphologie très particulière qui facilite son identification : de face, il ressemble à un cerf-volant et de profil, il a l'aspect d'une cuillère. Ses dimensions sont de 15 µm de long sur 10 µm de large. La partie antérieure comporte un noyau bilobé avec de volumineux caryosomes au niveau de deux dépressions antérieures faisant office de ventouses de fixation sur la bordure en brosse des cellules épithéliales intestinales. Les flagelles locomoteurs sont au nombre de huit, tous dirigés vers l'arrière : une paire antérieure, 2 paires situées à la partie moyenne de la cellule et une paire postérieure. Des microtubules agglomérés simulent un axostyle. Un à deux corps en virgule sont parfois visibles à la partie moyenne de la cellule. A l'état frais, les flagelles assurent au parasite une mobilité qui cesse rapidement dès que le milieu se refroidit et qui ne peut pas être observée avec ces préparations fixées. Le kyste a une forme ovale très particulière. Il mesure 9 à 15 µm de long sur 6 µm de large. La coque externe est lisse, peu épaisse et à double paroi. Les noyaux sont au nombre de quatre, le plus souvent groupés à l'une des extrémités du kyste. Dans l'axe du kyste, on peut observer des reliquats de flagelles en forme de « S » allongé.

Le diagnostic de cette parasitose chez un personnel de restauration impose son traitement et l'arrêt de travail du personnel concerné jusqu'à guérison parasitologique.

2 - Echantillon BASSIR ou AGAPE

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 coli* + très rares *Endolimax nanus*

Stade : kystes

Richesse de la selle : un kyste tous les trois champs au X40

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen de selles systématique chez un cuisinier.

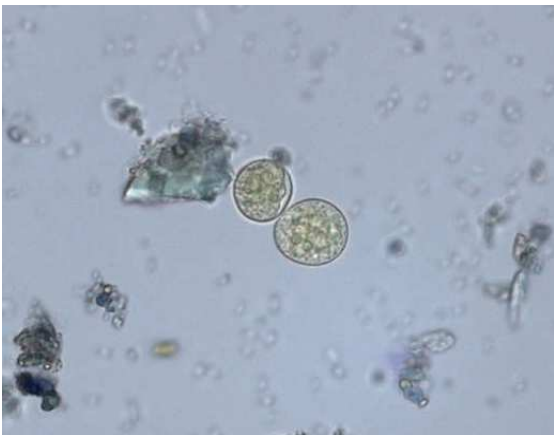


photo 1 : deux kystes d'*Entamoeba coli*
(coloration de Lugol, X400)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1205 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VII.

Pour rappel, les pourcentages des réponses obtenues lors des six envois précédents d'une selle contenant des kystes d'*Entamoeba coli* sont rapportés dans le tableau VIII.

tableau VII - Ensemble des réponses des 1205 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Kyste	<i>Entamoeba coli</i>	98,2	90,3 soit 97,1% des 1120 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Forme végétative		1,2	
Oeuf		0,6	
Stades divers/non précisés		0,6	
Stades divers/non précisés	<i>Endolimax nanus</i>		12,2
Stades divers/non précisés	Protozoaires divers		2,4
Stades divers/non précisés	Helminthes divers		0,2
ABSENCE DE PARASITE			0,7
PAS DE REPONSE			0,7
EXAMEN TRANSMIS			6,3

tableau VIII - Bilan des sept dernières opérations de contrôle « Kystes d'*Entamoeba coli* ».

Année	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de réponses « <i>Entamoeba coli</i> »	% « transmis » ou absence de réponse
2008	1205	3	90,3	7,0
2004	1249	4 - 8	93,7	4,8
2003	1313	5 - 10	95,6	2,3
2001	1297	5 - 10	93,2	3,0
2000	1288	6 - 10	94,3	1,8
1999	1332	10 - 15	93,8	2,9
1996	1217	2	93,8	2,1

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

Commentaires

Entamoeba coli est un protozoaire amiboïde se déplaçant par l'émission de pseudopodes.

C'est une amibe de grande taille, commensale du colon. Elle est très fréquente, sa répartition est cosmopolite, on recense 5 à 20% de porteurs selon les régions. Son rôle pathogène est nul mais elle doit être différenciée d'*Entamoeba histolytica* à laquelle elle peut être associée.

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

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

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

3 - Echantillon RYONI ou THABI

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 : *Endolimax nanus*

Stade : kystes

Richesse de la selle : deux kystes par champ au X40

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen de selles systématique chez un cuisinier.

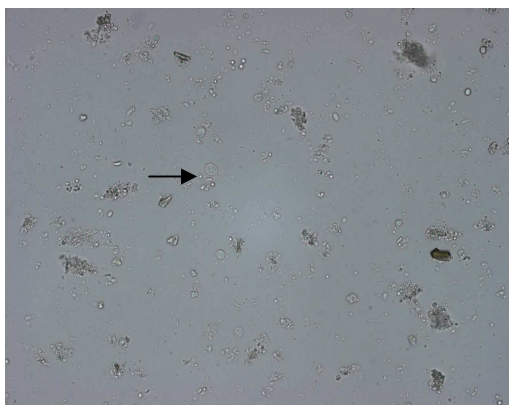


photo 1 : kystes d'*Endolimax nanus*
(état frais, X400)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1220 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 dix envois précédents d'une selle contenant uniquement d'*Endolimax nanus* sont rapportés dans le tableau X.

tableau IX - Ensemble des réponses des 1220 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Kyste	<i>Endolimax nanus</i>	97,9	58,9
divers/non précisés		2,1	soit 63,7% des 1127 laboratoires ayant rendu un diagnostic
divers/non précisés	Entamoeba hartmanni		11,1
divers/non précisés	<i>Entamoeba coli</i>		4,1
divers/non précisés	<i>E. dispar</i> ou <i>histolytica</i>		2,2
divers/non précisés	<i>Giardia intestinalis</i>		2,1
divers/non précisés	<i>Pseudolimax butschlii</i>		1,9
Autres protozoaires			3,5
Helminthes divers			0,4
ABSENCE DE PARASITE			11,0
PAS DE REPONSE			0,9
EXAMEN TRANSMIS			6,7

tableau X - Bilan des onze opérations de contrôle « Kystes d'*Endolimax nanus* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de bonnes réponses « <i>E. nanus</i> »	% réponse « absence de parasite »
2008	1220	0,5	58,9	11,0
2005	929	1	48,7	25,2
2004	1261	1	51,9	27,5
1998	1225	2 - 5	49,6	22,8
1995	1224	1	50,0	31,4
1992	2406	1	52,0	19,7
1989	1139	1 - 5	39,8	18,9
1987	1123	< 1	61,5	6,1
1985	1029	1 - 3	49,2	11,9
1984	1024	1 - 2	46,0	15,3
1983	1016	0,5 -2	27,1	31,3

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

Commentaires

Endolimax nanus est un protozoaire amiboïde se déplaçant par l'émission de pseudopodes. C'est une petite amibe commensale du colon, dont la répartition est cosmopolite. On la retrouve assez fréquemment sous nos climats mais son pouvoir pathogène est nul.

Cette amibe existe sous deux formes : le trophozoïte ou forme végétative et le kyste ou forme de résistance. Le kyste mesure de 6 à 10 µm de diamètre et est assez polymorphe : ovoïde, rectangulaire à angles arrondis. Il contient quatre noyaux de type *endolimax* avec un volumineux caryosome excentré.

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

Mycologie

1 - Echantillon KARDOS ou LARUS

Définition de l'échantillon

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : souche isolée d'une aspiration bronchique chez un homme de 55 ans insuffisant respiratoire.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1207 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XI.

Une partie du lot ayant été contaminée par un *Fusarium* durant son stockage avant envoi, les réponses acceptables pour ce lot sont « *Aspergillus nidulans* » ou « *Fusarium sp* ».

Pour rappel, les pourcentages de diagnostics exacts « *A. nidulans* » obtenus lors des trois envois précédents de cette espèce aspergillaire en 1982, 1987 et 1988 étaient respectivement de 38, 31 et 46%.

tableau XI - Bilan des réponses des 1207 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Aspergillus nidulans</i>	44,3 soit 49,3% des 1086 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8,7
<i>Aspergillus terreus</i>	8,5
<i>Aspergillus flavus</i>	2,1
<i>Aspergillus</i> autres espèces	1,4
<i>Fusarium sp.</i>	14,9 *
<i>Scedosporium sp.</i>	6,0
<i>Scopulariopsis sp.</i>	2,2
Filamenteux divers	4,7
Dermatophytes divers	1,5
Levures diverses	1,0
Pas de réponse	1,0
Examen transmis	9,0

* : contamination d'une partie du lot par un *Fusarium sp.*

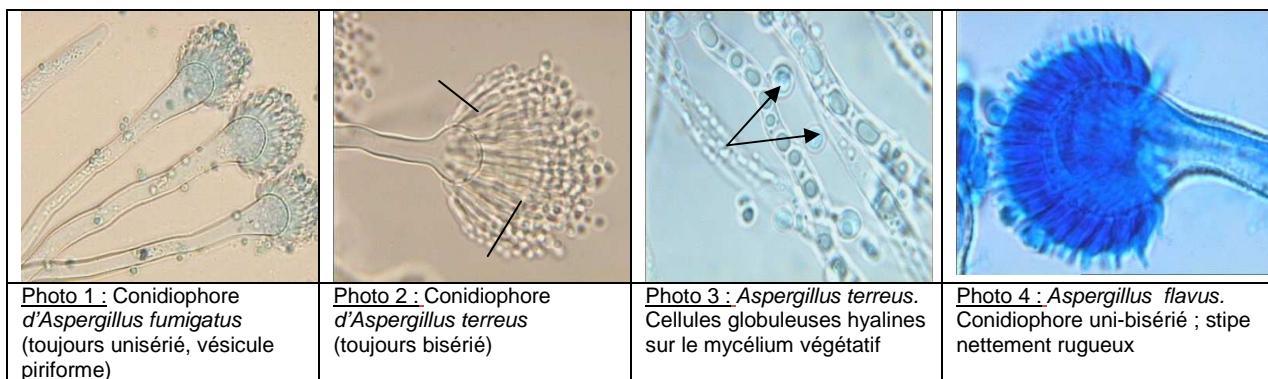
Commentaires

Trois espèces d'*Aspergillus* ont été confondues avec *E. nidulans* :

Aspergillus fumigatus (photo 1) : La vésicule au sommet du conidiophore est piriforme et non sphérique ; il n'y a que des phialides (jamais de métules) et elles recouvrent seulement les 2/3 de la vésicule. Le stipe est lisse et incolore (300-500 µm).

Aspergillus terreus (photos 2 et 3) : la couleur de la colonie n'est jamais verte. Il y a toujours des phialides portées par des métules. Le stipe du conidiophore est lisse et incolore (100-250 µm). De plus, sur le mycélium végétatif, c'est la seule espèce à présenter des cellules globuleuses hyalines.

Aspergillus flavus (photo 4) : la couleur de la colonie est vert tendre ; les conidiophores sont hauts et portent en début de croissance seulement des phialides puis en vieillissant les métules apparaissent. Le stipe du conidiophore est piqueté à rugueux et habituellement incolore. Sa hauteur peut varier de plus de 500 µm à 1000-1500 µm.



(Photos J.C. GANTIER)

Le résultat le plus surprenant est celui de *Scedosporium sp.* (6% des réponses) ! Il est probable que nos collègues ont confondu la production sur les filaments terminaux ramifiés des Hülle cells (cellules de la coque ou cellules en noisette) avec la production des conidies des *Scedosporium*. La couleur de la colonie et son revers auraient dû les alerter. La consultation de l'excellent document rédigé par le Pr D. Chabasse (Les moisissures d'intérêt médical, cahier de formation Bioforma n°25) aurait pu sans aucun doute lever toutes les ambiguïtés.

1. Caractéristiques épidémiologiques et cliniques

E. nidulans est isolé du sol, de l'air et des substrats végétaux. Il est impliqué dans des pathologies humaines ou animales de manière sporadique. Il est trouvé seul ou en association avec d'autres espèces fongiques, si bien que son rôle en pathologie infectieuse n'est pas clairement défini.

Des cas d'infections pulmonaires causées par *E. nidulans* ont été observés chez différents animaux : les poulets (Ainsworth & Austwick, 1955), les oiseaux sauvages en captivité (Ainsworth & Rewell, 1949), les canetons (Deka & Rao, 1988), les pigeons des bois (Mc Diarmid, 1955). Tscherniak en 1928 décrit le premier cas d'aspergillose pulmonaire à *E. nidulans* chez le cheval. De nouveaux cas sont décrits en 1991 et 1997 (Weiler & al., 1991 ; Guillot & al., 1997).

Wolf en 1947 identifie *E. nidulans* dans quelques infections de l'oreille et Lurie et Brookfield (1949) dénombrent cette espèce comme l'une des plus importantes causes d'otomycoses.

Bereston et Waring (1945, 1946) ont observé des onychomycoses et des dermatomycoses résultant de l'infection conjointe de *Trichophyton rubrum* et *E. nidulans* ou bien dues exclusivement à *E. nidulans*. Ce type de lésion reste rare mais a aussi été observée par Sandhu & Sandhu (1963) avec la variété *dentata* d'*Emericella nidulans*. Les autres cas cliniques rapportés avec ce champignon sont : infections pulmonaires (Segretain & Vien, 1957 ; Shao & al., 1983 ; Mizuki & al., 1994 ; Neyens & al., 1990), pulmonaire et cérébral (Morris & al., 1995), sinusites (Doby & Kombila-Favry, 1978 ; Mitchell & al., 1987), endophtalmie (Biasoli & de Bracalenti, 1986), ostéomyélite (Redmond & al., 1965), infections disséminées (Welsh & Buchness, 1955), cathéter (Lucas & al., 1999).

Un cas d'ostéomyélite et de pneumonie à *E. nidulans* a été rapporté par Bujak & Kwon-Chung en 1973 chez un enfant de 8 ans atteint d'une granulomatose septique familiale (GSF). De nouveau signalée en 1998 par Hek & al., l'infection pulmonaire est traitée avec succès par le Voriconazole dans ce cas particulier d'infection avec une GSF.

Mais *E. nidulans* présente un intérêt tout particulier dans la recherche sur les antifongiques. C'est en effet chez cette espèce qu'ont été isolées et identifiées les échinocandines A et B. Ces hexapeptides cycliques présentant une importante activité antifongique. C'est en 1974 ([Nyfeler & Keller-Schierlein](#)) qu'ils ont été isolés. Ils ont ensuite été modifiés chimiquement en LY303.366 (laboratoire Lilly) en 1990. Ce sont les chefs de file de ce qui deviendra dans les années 2000, la Caspofungine (Laboratoire MSD).

2. Description de l'espèce

Plus de 50 espèces sont présentes dans le sous-genre **Nidulantes** qui comprend les sections *Nidulantes* (> 25 espèces), *Versicolores* (> 16 espèces), *Usti* (> 6 espèces), *Terrei* (> 3 espèces) et *Flavipedes* (> 3 espèces).

Caractères de la section *Nidulantes* :

Stipe à parois lisses plus ou moins brunes. Taille inférieure à 250 µm.

Vésicule hémisphérique

Stérigmate bisérié (métule + phialides)

Conidies rugueuses ou nettement échinulées

Présence de Hülle cells (cellules de la coque)

Présence d'une phase sexuée (espèces souvent homothaliques) : genre *Emericella*, *Fennellia*

L'espèce *Emericella nidulans nidulans*, (Eidam) Vuillemin

(Samson, R.A. & van Reenen-Hoekstra, 1988), (Raper, K.B. & Fennell, D.I., 1965), (Henrard, P., 1934).

C'est une espèce très étudiée sur le plan de la génétique en raison de la facilité d'obtention de la forme sexuée. De nombreux travaux tentent d'expliquer les contrôles génétiques conduisant à la formation du cléistothèce et des ascospores.

Comme pour l'ensemble des espèces groupées sous le terme *Aspergillus sensu lato*, il est toujours recommandé d'effectuer des cultures en 3 points sur boîtes de Pétri de 90 mm et sur différents milieux.

Les deux milieux indispensables sont le milieu MEA à l'extrait de malt (2%) et le milieu CZA de Czapek (3% de saccharose). D'autres milieux peuvent être préconisés, en particulier pour observer une meilleure sporulation : milieu à la farine d'avoine (OMA), milieu à l'extrait de foin (HIA), etc ...

La production des conidiophores est en général précoce et **précède toujours** celle des cleistothèces de la reproduction sexuée.

➤ **Sur milieu MEA à 24°C**

Culture

La croissance est rapide et atteint 6-7 cm à J7. La colonie est plane, jaune verdâtre avec prédominance de têtes conidiennes. La production des cleistothèces est plus tardive et ils sont produits à la surface du réseau conidien. Le revers est pourpre foncé.

Aspect microscopique

Têtes conidiennes en courtes colonnes de 40-80 µm de long sur 25-40 µm de large.

Conidiophore légèrement sinueux à parois lisses brunes de 60-130µm de haut.

Vésicule hémisphérique de 8-10 µm de diamètre.

Les phialides (5-6 µm de haut) sont portées par des métules (5-6 µm de haut).

Les conidies sont globuleuses, rugueuses de 3-3,5 µm de diamètre, vertes à maturité.

Les cleistothèces se développent plus lentement. Ils sont souvent plus petits et absents de la zone centrale.

A maturité, ils mesurent 100-200 µm de diamètre entourés par un réseau jaunâtre d'hyphes productrices de cellules de la coque (Hülle cells = cellules noisettes) à parois très épaisses et réfringentes. Elles mesurent en général plus de 25 µm de diamètre à maturité.

Dans le réseau des Hülle cells, le cleistothèce présente une couche cellulaire unique rouge brun à maturité. A l'intérieur se forment les asques qui contiennent les 8 ascospores.

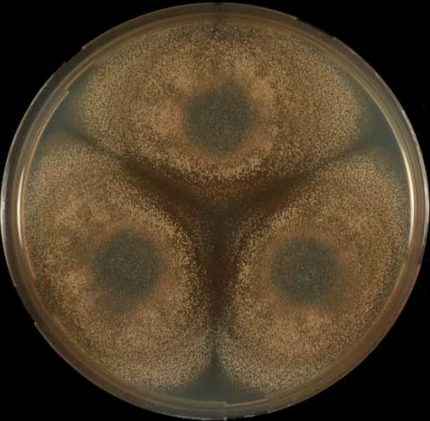

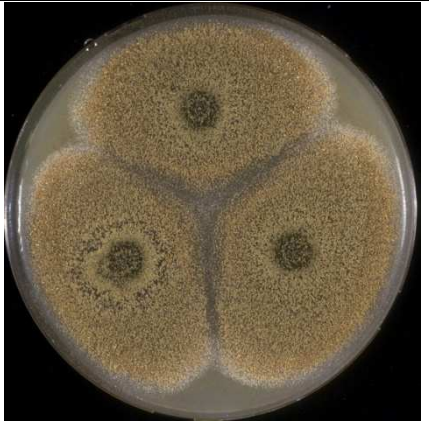
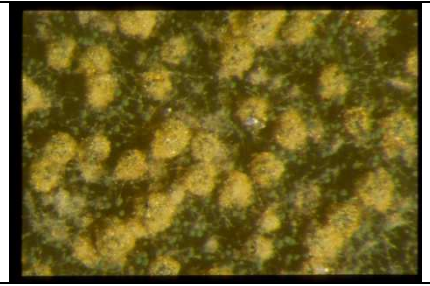
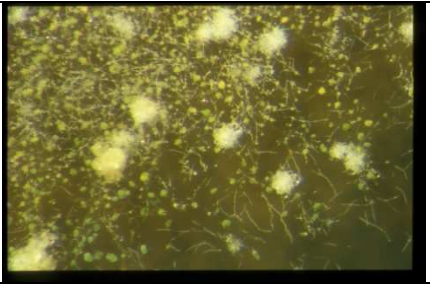
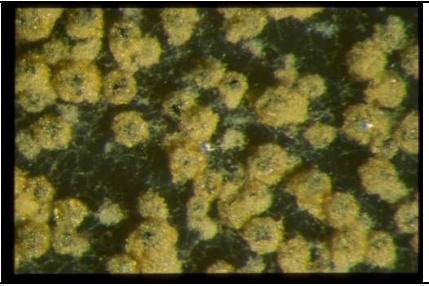


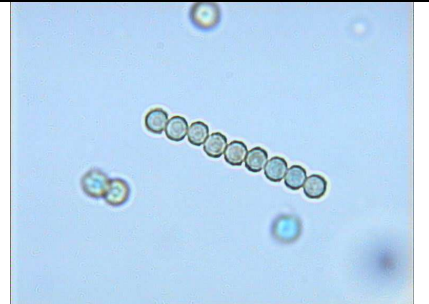
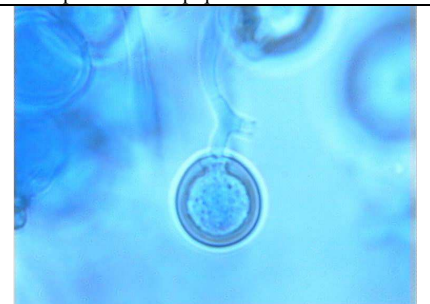

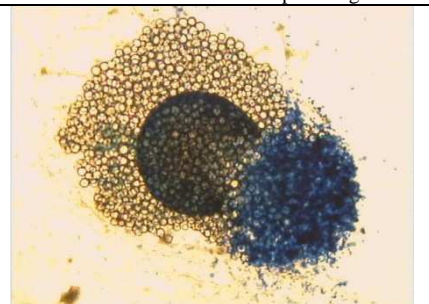
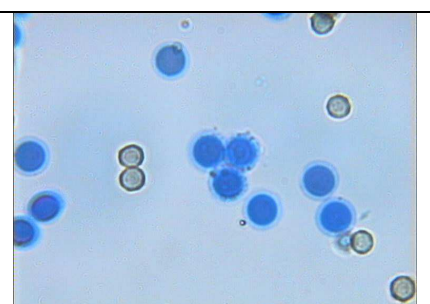
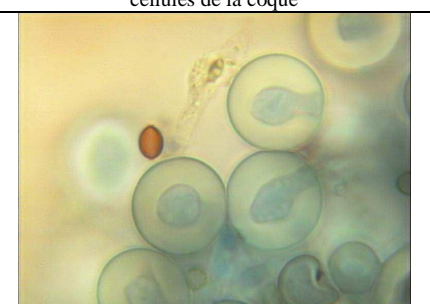

Très rapidement les ascospores sont libérées. Elles sont rouge pourpre, lenticulaires, à parois lisses avec 2 crêtes équatoriales. Elles mesurent 3,8-4,5 µm de diamètre et 3,5-4,0 µm d'épaisseur. Les crêtes équatoriales sont sinueuses et mesurent rarement plus de 1 µm.

➤ **Sur milieu CZA à 24°C**

Culture

Diamètre 5-6 cm à J14. Selon les souches la culture peut être sombre à vert cresson et présente de très nombreuses têtes conidiennes ou bien beige brunâtre à couleur miel et présentant alors de très nombreux cleistothèces. Le revers de la colonie varie de rose pâle à rouge puis devient presque noir à J14-J21.

JC GANTIER, Laboratoire Parasitologie-Mycologie, Faculté Pharmacie, Chatenay-Malabry.

		
MEA 2% J14	CZA J14	OMA J14
		
MEA J14 cleistothèces entourées des Hülle cells	CZA J14	OMA J14
		
Aspect microscopique de la culture à J10	Conidiophore bisérié et stipe lisse brun	Chaine de conidies verdâtres à paroi rugueuse
		
Jeune Hülle cell (cellule de la coque)	Cleistothèce en cours de maturation entourée des cellules de la coque	Cleistothèce éclaté libérant les jeunes ascospores
		
Jeunes ascospores (colorées par le bleu lactique) et conidies verdâtres à maturité (Photos J.C. GANTIER)	Cellules de la coque et ascospore rouge à maturation en vue de profil	Ascospores à maturation montrant la collerette ondulée caractéristique de l'espèce

Bibliographie

- AINSWORTH G.C., AUSTWICK P.C.K., 1955, A survey of animal mycoses in Britain: General aspects. *Vet. Record*, 67: 88-97
- AINSWORTH G.C., REWELL R.E., 1949, The incidence of aspergillosis in captive wild birds. *J.Comp.Path. Therap.*, 59: 231-224
- BENNETT J.W. & KLICH M.A., 1992, *Aspergillus*: Biology and Industrial applications. Butterworth-Heinemann, 416p
- BERESTON E.S., WARING W.S., 1945, Onychomycosis and dermatomycosis caused by *Trichophyton rubrum* and *Aspergillus nidulans*. *J.A.M.A.*, 95: 189-190
- BERESTON E.S., WARING W.S., 1946, *Aspergillus* infection of the nails. *Arch. Derm. Syph.*, Chicago 54: 552-557
- BIASOLI M.C., DE BRACALENTI B.J.C., 1986, Endoftalmite por *Aspergillus nidulans*. *Rvta Argent. Micol.*, 9: 35-38
- BOTTON B., BRETON A., FEVRE M., GUY Ph., LARPENT J.P., VEAU P., 1985, Moisissures utiles et nuisibles-Importance industrielle. *Biotechnologies*. Ed Masson, Paris.
- BUJAK J.S., KWONG CHUNG K.J., CHUSID M.J., 1974, Osteomyelitis and pneumonia in a boy with chronic granulomatous disease of childhood caused by a mutant strain of *Aspergillus nidulans*. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 61: 361-367
- CHANG Y.C., SEGAL B.H., HOLLAND S.M., MILLER G.F., KWONG-CHUNG K.J., 1998, Virulence of catalase-deficient *Aspergillus nidulans* in P47phox^{-/-} mice. *J. Clin. Invest.*, 101: 1843-1850.
- DEKA P.N., RAO A.T., 1988, Aspergillosis caused by *Aspergillus nidulans*. *Cheiron* 17: 232-234
- DOBY J.M., KOMBILA-FAVRY M., 1978, Présence de formes sexuées (cléistothèques et Hülle cells) dans un cas humain d'aspergillose du sinus maxillaire chez *Aspergillus nidulans* associé à *Aspergillus fumigatus*. *Mycopathologia*, 64: 157-163
- GUILLOT J., COLLOBERT C., GUÉHO E., MIALOT M., LAGARDE E., 1997, *Emericella nidulans* as an agent of guttural pouch mycosis in a horse. *J. Med. Vet. Mycol.*, 35: 433-435
- HEK L.G. van 't, VERWEIJ P.E., WEEMAES C.M., DALEN R. van, YNTEMA J.B., MEIS J.F., 1998, Successful Treatment with Voriconazole of Invasive Aspergillosis in Chronic Granulomatous Disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 157: 1694-1696
- HENRARD P., 1934, Polarité, hérédité, et variation chez diverses espèces d'*Aspergillus*. *La Cellule* 43: 351-424
- KOZACKIEWICZ Z., 1989, *Aspergillus* species on stored products. *Mycological papers N°1 61*, 188p CAB International Mycological Institute
- KRISHNARO T.V., GALGANI J.N., 1997, Comparison of the *in vitro* activities of the echinocandin LY303366, the pneumocandin MK0991, and fluconazole against *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob. Agent. Chem.*, 41: 1957-1960.
- KURTZ M.B., DOUGLAS C.M., 1997, Lipopeptide inhibitors of fungal glucan synthase. *J. Med. Vet. Mycol.*, 35: 79-86.
- LUCAS G.M., TUCKER P., MERZ W.G., 1999, Primary cutaneous *Aspergillus nidulans* infection associated with a Hickman catheter in a patient with neutropenia. *Clin. Infect. Dis.*, 29: 1594-1596
- LURIE H.I., BROOKFIELD E., 1949, *Aspergillus* sp. causing otomycosis : Fungicidal action of various therapeutic substances. *S. African Med.*, 23: 158-160
- MC DIARMID A., 1955, Aspergillosis in free living wild birds. *J. Comp. Path. Therap.*, 65: 246-249
- MITCHELL R.G., CHAPLIN A.J., MACKENZIE D.W.R., 1987, *Emericella nidulans* in a maxillary sinus fungal mass. *J. Med. Vet. Mycol.*, 25: 339-341
- MIZUKI M., CHIKUBA K., TANAKA K., 1994, A case of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis due to *Aspergillus nidulans*. *Mycopathologia*, 128: 75-79
- MORRIS A., SCHELL W.A., MCDONAGH D., CHAFFEE S., PERFECT J.R., 1995, Pneumonia due to *Fonsecaea pedrosoi* and cerebral abscesses due to *Emericella nidulans* in a bone marrow transplant recipient. *Clin. Infect Dis.*, 21: 1346-1348
- NEIJENS H.J., FRENKEL J., MUICK KEISER-SCHRAMA S.M.P.F., DE DZOLJIC-DANILOVIC G., MERADJI M., DONGEN J.J.M. VAN., 1990, Invasive aspergillus infection in chronic granulomatous disease: Treatment with itraconazols. *J. Pediatr.*, 115: 1016-1019
- NYFELER R, KELLER-SCHIERLEIN W., 1974, Metabolites of microorganisms. 143. Echinocandin B, a novel polypeptide-antibiotic from *Aspergillus nidulans* var. *echinulatus*: isolation and structural components. [Helv Chim Acta.](#), 57: 2459-2477.
- Annales Parasitologie 08PAR1

- RAPER, K.B., FENNELL, D.I., 1965, The Genus *Aspergillus*. Krieger, Florida, i-ix, 686p
- REDMOND A., CARRÉ I.J., BIGGART J.D., MACKENZIE D.W.R., 1965, Aspergillosis (*Aspergillus nidulans*) involving bone. J. Path. Bact., 89: 391-395
- SAMSON R.A., 1979, A compilation of the *Aspergillus* described since 1965. Studies in Mycology, N°18, 3 8p, CBS Utrecht, The Netherlands.
- SAMSON R.A., PITT J.I., 1985, Advances in *Penicillium* and *Aspergillus* systematics, NATO Scientific Affairs Divisions, Plenum Press, 483p
- SAMSON R.A., PITT J.I., 2000, *Penicillium* and *Aspergillus* classification. Harwood academic publishers, 510p
- SAMSON R.A., VAN REENEN-HOEKSTRA E.S., 1988, Introduction food-born fungi: 32.
- SAMSON R.A., PITT J.I., 1990, Modern concepts in *Penicillium* and *Aspergillus* classification. NATO Scientific Affairs Divisions, Plenum Press, 478p
- SANDHU D.K., SANDHU R.S., 1963, A new variety of *Aspergillus nidulans*. Mycologia, 55: 297-299
- SEGRETAIN G., VIEU M., 1957, Formes parasitaires des *Aspergillus* dans l'aspergillome bronchique. Diagnostic biologique des aspergilloses broncho-pulmonaires. Arch. Biol. Med., 33 : 1281-1289
- SHAO J.Z., LIAO W.Q., LI S.O., WU S.X., ZHANG J.Z., HUANG J.J., 1983, Mycologic identification of *Emericella nidulans* and *Aspergillus flavus* caused pulmonary infection. Chin. Med. J., 96: 306-308
- TSCHERNIAK W.S., 1928, Zur Lehre den Broncho- und Pneumomykosen beim Pferde. Arch. Wiss. U. Prakt. Tierheilk., 57: 417-444
- WEILER H., STAIB F., KELLER H., STÄCKER W., 1991, Luftsackmykose beim Pferd. Ein Beitrag zur Pathologie und Aetiologie. Pferdeheilkunde, 7: 179-187
- WELSH R.A., BUCHNESS J.M., 1955, *Aspergillus* endocarditis, myocarditis and lung abscesses. Report of a case. Am. J. Clin. Pathol., 25: 782-786
- WOLFF T., 194, Relation of various fungi to otomycosis. Arch. Otolaryngol., 46: 361-374

2 - Echantillon BEDAYA ou ABONDO

Définition de l'échantillon

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : souche isolée d'une lésion squameuse nummulaire de la face interne de la cuisse droite chez une jeune femme originaire du Sénégal, en France depuis 1 mois.



photo 1. *T. rubrum* souche africaine sur Sabouraud
Aspect macroscopique (recto)

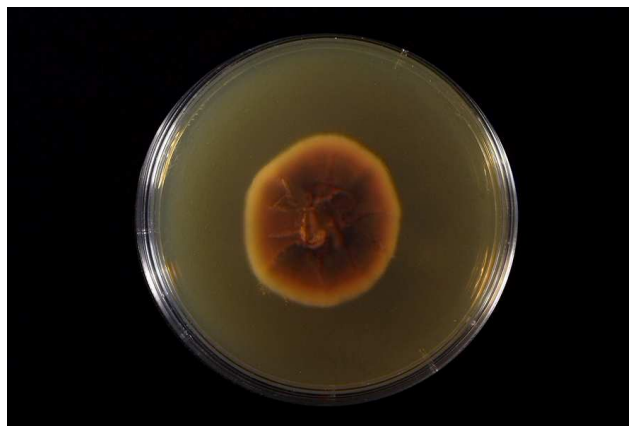


photo 2. *T. rubrum* souche africaine sur Sabouraud
Aspect macroscopique (verso)



photo 3. *T. rubrum* souche africaine sur Borelli
Aspect macroscopique (recto)



photo 4. *T. rubrum* souche africaine
Aspect microscopique

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1205 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des six envois précédents d'une souche de *T. rubrum* sont rapportés dans le tableau XIII.

tableau XII - Bilan des réponses des 1205 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Trichophyton rubrum</i>	54,5 soit 61,3% des 1072 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>T.mentagrophytes</i> et variété <i>interdigitale</i>	10,7
<i>Epidermophyton floccosum</i>	8,3
<i>Trichophyton verrucosum</i>	4,3
Trichophyton soudanense	2,0
<i>Microsporum audouinii</i>	1,7
<i>Microsporum persicolor</i>	1,7
<i>Trichophyton</i> autres espèces	2,8
Dermatophytes divers	0,7
Filamenteux divers	1,2
Levures diverses	1,0
Pas de réponse	1,7
Examen transmis	9,4

tableau XIII - Bilan des sept opérations de contrôle «*Trichophyton rubrum*».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de réponses			% « examen transmis » ou absence de réponse
		« <i>T. rubrum</i> »	« <i>T.mentagrophytes</i> et var <i>interdigitale</i> »	« <i>E. floccosum</i> »	
2008	1205	54,5	10,7	8,3	11,1
1999	1332	62,8	24,2	1,2	6,7
1995	1256	40,0 *	40,6	6,4	6,0
1993	1236	63,5	18,6	2,8	6,5
1990	1140	65,0	13,7	2,7	9,6
1987	1054	29,0	39,2	14,6	4,1
1981	731	62,2	8,9	3,2	12,2

* : souche africaine atypique

Commentaires

1. Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et biologiques

T. rubrum, espèce anthropophile cosmopolite, est le dermatophyte le plus incriminé en pathologie humaine. Sa dissémination dans le milieu extérieur est assurée par la présence de spores (ou arthrospores) issues des squames et de fragments d'ongles, dispersés par les sujets contaminés sur le sol (carrelage de douche ou de sols de piscine ou encore de tatamis) et sur divers objets (linge de toilette, chaussures, etc...), vecteurs de squames virulentes (contenant les arthrospores).

T. rubrum provoque des lésions surtout sur les parties couvertes du corps (intertrigos interdigitoplantaires, onyxis des pieds plus rarement des mains) et aussi sur n'importe quel secteur de la peau mais épargnant habituellement le cuir chevelu, visage, cou, jambe, ou plis inguinaux et cuisse comme dans cette observation. Ces lésions peuvent être parfois très atypiques (folliculites, pachydermie des paumes de mains) ou quasi inapparentes. Par contre, *T. rubrum* est exceptionnellement un agent de teignes ou de sycosis.

Les infections causées par *T. rubrum* sont volontiers chroniques et extensives. Chez l'immunodéprimé (ou après traitement local par corticoïdes), on peut observer exceptionnellement un parasitisme des poils et chez ces mêmes patients, au niveau des ongles, un envahissement à partir de la matrice.

Sur le plan mycologique, *T. rubrum* est très polymorphe. En pratique, il se présente sous 2 variétés principales :

- *T. rubrum* variété duveteuse (appelé aussi : *T. rubrum* autochtone), le plus souvent isolé en France.
- *T. rubrum* variété poudreuse (correspondant à des souches tropicales) moins fréquemment isolé, d'origine africaine ou asiatique (photos 1-2-3-4), comme c'est le cas de notre observation.

2. Commentaire des résultats et analyse des principales erreurs

Il s'agissait de *T. rubrum* variété poudreuse. Dans 10,7% des cas, *T. rubrum* a été confondu avec *T. mentagrophytes* variété *interdigitale*. Cette confusion est classique car ces deux espèces colonisent les mêmes sites anatomiques et entraînent souvent les mêmes lésions. Mais l'aspect macroscopique de la culture avec le pigment rouge vineux présent au verso est en faveur de *T. rubrum*. De même, sur le plan microscopique, les souches sont riches en conidies typiques de *T. rubrum* : nombreuses microconidies piriformes et nombreuses macroconidies à paroi mince et lisse et de diamètre régulier (photo 4). Cette morphologie (conidiogénèse très riche), et l'origine du sujet, plaident pour une souche tropicale (africaine). Les macroconidies de *T. mentagrophytes*, parfois très nombreuses, ont une extrémité terminale dilatée donnant un aspect « en massue ».

Cette souche était isolée de la face interne de la cuisse droite. Avec cette localisation clinique, il pourrait s'agir aussi d'*Epidermophyton floccosum* (8,3 % des réponses), mais ce dermatophyte est morphologiquement bien différent : absence de microconidies, présence de macroconidies disposées en amas (régime de bananes) dans les cultures jeunes et de chlamydospores dans les cultures âgées.

Moins compréhensible est la confusion avec *T. verrucosum* (4,3%), espèce zoophile, d'origine bovine ou ovine donnant des lésions volontiers inflammatoires et suppurées, donnant en culture de rares conidies et des filaments d'aspect "toruloïde". Enfin *T. soudanense* (2 %) et *M. audouinii* (1,7 %) sont effectivement rencontrés au Sénégal, mais ce sont avant tout des agents de teignes, les localisations aux pieds sont rarissimes.

3. Caractères d'identification de *T. rubrum*

À l'examen direct des produits pathologiques, on observe des filaments plus ou moins arthrosporés. Le parasitisme des poils, rarement vu, peut être ecto ou endothrix.

T. rubrum ne pénètre pas le cheveu *in vivo*.

En culture, sur milieu de Sabouraud (avec et sans Actidione), *T. rubrum* pousse en 6 à 10 jours. On différencie plusieurs aspects :

***T. rubrum* variété duveteuse (autochtone)**

Les colonies sont blanches, duveteuses, plates, à pourtours arrondis. Au verso de la colonie se forme un pigment disposé en disque ou en cocarde, de couleur brun rouge à rouge vineux. Ce pigment est plus net en bordure de gélose.

Sur le plan microscopique, au 10^{ème} jour apparaissent des microconidies piriformes, souvent peu abondantes, disposées "en acladium", parfois associées à des ébauches latérales de fuseaux ou organes triangulaires, rarement cloisonnées. On n'observe jamais de vrilles. Les macroconidies à paroi mince et lisse, de calibre régulier sont rarement observées dans les souches autochtones.

***T. rubrum* variété poudreuse (souche de cette opération de contrôle)**

Macroscopie : les colonies sont poudreuses, planes ou plissées, à pourtours arrondis (photos 1-2). Le pigment rouge vineux est presque toujours présent au recto et constant au verso. Le repiquage sur milieu de Borelli accentue encore la pigmentation (photo 3).

Microscopie : on observe une conidiogénèse très abondante (nombreuses microconidies piriformes et macroconidies à paroi mince et lisse, de calibre régulier, ayant parfois un appendice flagelliforme (60 à 80 µm x 6 à 8 µm) (photo 4). Un signe négatif important : il n'y a jamais de vrilles.

Autres variants observés en primoculture :

- souches pléomorphisées d'emblée : duvet blanc, absence de pigment, absence de spores.
- souches à pigment mélanique : le pigment brun diffuse dans la gélose.
- souches à pigment jaune (recto et verso) : souvent stériles, posant un problème de diagnostic différentiel avec *T. soudanense*.
- souches dysgoniques : de couleur rouge violet, glabres, de pousse lente, stériles. Elles posent un problème de diagnostic différentiel avec *T. violaceum*.

Dans toutes ces variétés, on n'observe jamais de vrilles.

4. Milieux et tests d'identification

En cas de difficultés diagnostiques (pléomorphisme, absence de fructification, atypies), il est nécessaire de faire un repiquage sur un milieu favorisant la conidiogenèse et la pigmentation (Borelli, PDA, malt, RAT, Sabouraud dilué,...). Le diagnostic est alors reporté de 8 à 10 jours.

On peut rechercher une uréase sur milieu de Christensen ou un urée-indole.

T. rubrum autochtone var duveteuse est uréase (-) au 8^{ème} jour (à J4 avec l'urée indole), tandis que *T. rubrum* variété poudreuse est uréase (+) au 8^e jour comme *T. mentagrophytes* ou *T. mentagrophytes* variété *interdigitale* (ou J4 avec l'urée-indole)

On peut préconiser aussi la recherche d'organes perforateurs : *T. rubrum* (variété duveteuse) ne donne pas d'organes perforateurs mais provoque une fonte du cheveu tandis que *T. rubrum* variété poudreuse donne des organes perforateurs, tout comme *T. mentagrophytes* ou *T. mentagrophytes* variété *interdigitale*.

5. Diagnostic différentiel entre *T. rubrum* et *T. mentagrophytes* variété *interdigitale*

En pratique courante, le diagnostic différentiel se pose essentiellement entre *T. rubrum* variété duveteuse (autochtone) et *T. mentagrophytes* variété *interdigitale*.

Dans les deux cas, les souches sont pauvres en spores et sont souvent pléomorphisées d'emblée.

Le repiquage sur un milieu favorisant la production du pigment et des spores, associé à une recherche de l'uréase, permet en général le diagnostic. Sur ces milieux d'identification on observe :

- *T. rubrum* : pigment rouge ou brun rouge, spores piriformes et ébauches latérales de fuseaux, test à l'uréase négatif.

- *T. mentagrophytes* variété *interdigitale* : sans pigment rouge ou présence d'un pigment brun rouge au verso mais diffus et ne donnant pas, comme pour *T. rubrum*, un aspect en disque ou en cocarde.

Les spores nombreuses sont rondes et abondantes disposées en grappes (mais elles sont aussi associées à des spores piriformes dans les souches duveteuses et sur les rameaux aériens).

Présence de vrilles (les vrilles ne sont jamais observées chez *T. rubrum* quelle que soit la variété).

Présence de macroconidies à paroi mince et lisse mais dont le diamètre est plus étroit à l'extrémité proximale qu'à l'extrémité distale.

Présence d'une uréase sur milieux appropriés.

En résumé :

T. rubrum est le dermatophyte le plus fréquent en pathologie humaine. Strictement anthropophile, il donne surtout des lésions des pieds (intertrigo, onyxis), mais d'autres localisations sont possibles (intertrigo inguinal, onyxis des mains, pachydermie des paumes, lésions du tronc, des jambes, des fesses...).

C'est un dermatophyte très polymorphe. On distingue les souches autochtones duveteuses où la pigmentation peut manquer en primo culture, elles sont le plus souvent pauvres en conidies, et les souches tropicales volontiers poudreuses à pigmentation toujours présente et plus marquée avec abondance de micro et macroconidies. C'est le cas de nos isolats BEDAYA et ABONDO.

Il convient de connaître ces souches de *T. rubrum* "exotiques" qui peuvent, du fait de la richesse des spores, faire hésiter pour un diagnostic de *T. rubrum*

D'où l'importance de connaître l'origine des patients. Le laboratoire doit s'enquérir de ces informations et connaître ces variétés de *T. rubrum*.

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

Bibliographie

- 1- Les Dermatophytes. Cahier de Formation Biologie médicale, n°31 (Bioforma), 2004.
- 2- Moisissures, Dermatophytes, Levures. Du prélèvement au Diagnostic. Editions Bio Mérieux 2008.

3 - Echantillon ROSSI ou TERRAS

Définition de l'échantillon

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : souche isolée d'un prélèvement sur cathéter en unité de soins intensifs.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1220 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XIV.

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

tableau XIV - Bilan des réponses des 1220 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Candida krusei</i>	76,0 soit 87,5% des 1060 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Trichosporon sp.</i>	2,1
<i>Geotrichum (Trichosporon) capitatum</i>	1,5
<i>Geotrichum candidum</i>	0,9
<i>Geotrichum sp.</i>	0,7
<i>Candida parapsilosis</i>	0,7
<i>Candida divers</i>	2,5
Levures autres	1,0
Filamenteux divers	1,5
Pas de réponse	1,3
Examen transmis	11,8

tableau XV - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Candida krusei* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% réponses			% « examen transmis » ou pas de réponse
		« <i>C. krusei</i> »	« <i>Trichosporon</i> » ou « <i>Geotrichum</i> »	« <i>C. albicans</i> »	
2008	1220	76,0	5,2	0,2	13,1
1999	1323	77,9	1,7	1,2	8,8
1994	1199	77,1	4,1	1,2	4,4
1988	1185	66,0	3,1	4,1	5,8
1981	751	67,9	3,9	3,3	13,8

Commentaires

Les résultats de ce test sont bons puisque 76% des participants ont correctement identifié *Candida krusei* et stables par rapport aux envois précédents (77,9% en 1999 ; 77,1% en 1994).

De nombreuses espèces appartenant au genre *Candida* sont impliquées dans les candidoses septicémiques. La plus fréquente est *C. albicans* (environ 50% de toutes les levures isolées chez l'homme) commensale des cavités naturelles, en particulier du tube digestif.

Le nombre croissant de patients aux défenses immunitaires amoindries (VIH, unité de soins intensifs, oncologie...) et la pression médicamenteuse par les triazolés et en particulier le fluconazole ont permis le développement d'autres espèces en pathologie humaine avec par ordre de fréquence décroissant : *C. glabrata* commensal des voies génito-urinaires et du tube digestif (15-20%) ; *C. tropicalis* commensal des muqueuses et de la peau ; *C. parapsilosis* commensal de la peau ; *C. kefir*, issu de produits laitiers fermentés ; *C. krusei* dont l'émergence est attribuée à sa résistance primaire au fluconazole.

Trois remarques sont importantes concernant l'identification des levures :

- critères d'identification morphologiques qui permettent de préciser le genre et physiologiques qui précisent l'espèce,
- *C. albicans* est la levure à rechercher en priorité avec des tests spécifiques (test de blastèse, chromagar[®] ...),
- l'association de levures est fréquente d'où l'intérêt d'utiliser différents tests (galeries ID 32 C[®], tests d'agglutination...)

1. Identification de *C. krusei*

L'examen macroscopique montre des colonies blanc-mat, planes, très sèches et parfois plissées sur milieu de Sabouraud chloramphénicol.

A l'examen microscopique direct, les levures sont allongées, ovoïdes ou même cylindriques et mesurent (3-6) x (5-12) µm.

En ce qui concerne le diagnostic de genre, sur milieu PCB (Pomme de terre-Carotte-Bile) ou RAT (Rice Agar Tween 80), on observe une pseudofilamentation longue, bien développée, avec des bouquets de blastospores en verticille à l'articulation des bourgeons et le long des filaments. L'aspect peut parfois évoquer des arthrospores de *Geotrichum capitatum* mais la fermentation du glucose est positive pour *C. krusei* et négative pour *G. capitatum*. Le test de blastèse ne montre pas de pseudofilaments et sur Chromagar[®] les colonies sont rosâtres et mates.

En ce qui concerne le diagnostic d'espèce, on note :

- fermentation uniquement du glucose,
- assimilation uniquement du glucose,
- réduction du tétrazolium négative,
- uréase négative,
- sensible à l'actidione,
- Krusei-color[®] test positif : agglutination rapide en moins d'une minute.

En résumé, le diagnostic de *C. krusei* peut être réalisé simplement sur Chromagar[®] suivi d'un test d'agglutination par Krusei-color.

2. Analyse des principales erreurs

***Trichosporon sp.* (2,1%)**

Les levures appartenant à ce genre ont des formes variables, un pseudomycélium bien développé ou réduit. Un vrai mycélium et des arthrospores sont toujours présents. La fermentation est présente ou absente.

Quinze espèces sont présentes dans l'environnement ; six peuvent être retrouvées chez l'homme et *T. cutaneum* est la plus fréquente :

- examen macroscopique : colonie crème cérébriforme, plane et humide en périphérie
- examen microscopique : sur PCB, filaments longs se terminant parfois par des renflements ; rares arthrospores irrégulières déformées ou triangulaires
- diagnostic d'espèce : pas de croissance à 37°C ; assimilation des sucres : L-arabinose, sorbitol, erytritol, mélibiose, inositol ; sensible à l'actidione ; réduction des sels de tétrazolium faiblement positive.

Geotrichum sp.

Trois espèces sont importantes à connaître chez l'homme : deux sont strictement humaines (*G. capitatum* et *G. clavatum*) et une est d'origine alimentaire (*G. candidum*).

***G. candidum* (0,9%)**

L'examen macroscopique montre des colonies de taille variable selon le type après 4 jours de culture à 27°C. Elles sont glabres ou duveteuses, à texture plâtreuse ou visqueuse, blanches ou crèmes.

A l'examen microscopique, on observe des filaments de diamètre relativement épais. Ils se ramifient de façon di ou trichotomique. La production d'arthrospores varie avec le type morphologique.

***G. capitatum* (1,5%)**

Les infections disséminées sont exceptionnelles chez l'homme et surviennent chez des patients sévèrement immunodéprimés et neutropéniques.

L'examen macroscopique montre des colonies blanches à crèmes, glabres à finement duveteuses, plissées, brillantes ou mates.

L'examen microscopique montre la présence de filaments, de levures allongées et d'arthrospores.

La fermentation des sucres est absente (*G. capitatum* ne fermente pas le glucose contrairement à *C. krusei*) ; assimilation des sucres : galactose et glycérol ; réduction du tétrazolium faiblement positive ; uréase négative ; sensible à l'actidione ; croissance rapide à 37°C.

C. parapsilosis (0,7%)

C. parapsilosis est une levure saprophyte de la peau. Elle est responsable de lésions cutanées et d'onyxis. Elle a pris une importance considérable dans l'étiologie des septicémies surtout chez les enfants.

L'examen macroscopique montre des colonies blanches à crèmes, crémeuses parfois brillantes.

L'examen microscopique révèle la présence de levures ovoïdes de (3-4) x (3-7) µm. Sur PCB ou RAT, il existe une pseudofilamentation grêle, courte, très ramifiée avec peu de blastospores. Le test de blastèse est négatif. Le Chromagar® montre qu'il ne s'agit pas de *C. albicans*.

Elle fermente le glucose et de façon variable le galactose. Elle assimile le galactose, le saccharose, le maltose et le thréalose.

Elle réduit faiblement le tétrazolium et est sensible à l'actidione.

A. DATRY, Laboratoire Parasitologie-Mycologie, C.H.U. Pitié Salpêtrière - Paris.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2229 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0801-0802, 0803-0804, 0805-0806, 0807-0808, 0809-0810, 0811-0812 ont été proposés. Les échantillons étaient identiques deux à deux :

- 0801-0802 et 0803-0804 : absence d'IgG spécifiques
- 0805-0806 et 0809-0810 : présence d'IgG (taux moyen)
- 0807-0808 et 0811-0812 : présence d'IgG (taux moyen)

Aucun échantillon ne contenait d'IgM anti-toxoplasme.

Méthode statistique et expression des résultats

Les paramètres statistiques (effectif, moyenne et écart-type) sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires. Ils sont ensuite recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne).

Dans les tableaux de résultats concernant le titrage des IgG par les réactifs immunoenzymatiques figurent, pour chaque groupe supérieur ou égal à 10 participants : les effectifs non tronqués (n), les effectifs tronqués (nTr), la moyenne tronquée (mTr), l'écart-type tronqué (sTr) et le coefficient de variation tronqué (CVTr) calculé par la formule $100 \times sTr / mTr$.

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

Résultats des participants

1 - Titrage des IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne le titrage des IgG anti-toxoplasme, 2005 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (73%), soit avec deux réactifs (27%).

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 0801-0802 et 0803-0804 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 rassemblées 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 (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	2092 (83%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	748
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	605
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	180
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	112
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	97
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	79
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	70
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasrose G"	62
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	29
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	27
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	25
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	16
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	15
SIEMENS "Immulite toxoplasrose G"	11
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	11
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasrose IgG"	4
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	1
<u>LATEX :</u>	303 (12%)
FUMOUCHE "Toxolater"	223
BIORAD "Pastorex Toxo"	53
SERVIBIO "Servitex Toxo"	12
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	10
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	50 (2%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	42 (1,7%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	41
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	1
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	22 (0,9%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	13 (0,5%)
Total	2522 (100%)

tableau XVII - Echantillons négatifs 0801-0802 et 0803-0804

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	NP	total
Négatif	1391	209	26	42	37	16	1721
Limite	6						6
total	1397	209	26	42	37	16	1727

tableau XVIII - Echantillons positifs 0805-0806 et 0809-0810

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	Total
Négatif		3					3
Limite	1	2		2			5
Positif	1384	200	27	27	22	5	1665
total	1385	205	27	29	22	5	1673

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	26	23	23
m Tr	25,1	33	16,7
CV Tr (%)	18	22	23
intervalle 1 écart-type	14 - 45	15 - 72	9 - 32

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	480	468	27,4	2,8	10,1
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	419	403	14,4	2,3	16,3
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	123	123	39,4	4,3	10,9
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	64	62	61,8	2,9	4,7
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	48	46	20,6	2,5	11,9
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	73	71	288,4	16,8	5,8
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	51	50	37,9	4,3	11,3
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	39	37	29,1	2,1	7,3
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	19	18	39,4	13,0	32,9
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	18	18	8,3	0,9	10,8
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	11	11	44,9	5,3	11,8
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1378</i>	<i>1298</i>	<i>26,5</i>	<i>12,6</i>	<i>47,4</i>

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus. Elle est fournie à titre indicatif.

tableau XIX - Echantillons positifs 0807-0808 et 0811-0812

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	NP	total
Négatif	1	2					3
Limite		1	2				3
Positif	1377	197	26	22	27	5	1654
total	1378	200	28	22	27	5	1660

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	26	23	21
m Tr	45,5	45,8	31,6
CV Tr (%)	13	25	21
intervalle 1 écart-type	28 - 74	17 - 120	15 - 65

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	481	457	43,5	4,2	9,7
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	418	401	19,8	2,9	14,7
BECKMAN "ACCESS Toxo IgG"	122	115	61,7	7,3	11,8
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	66	64	103,7	5,8	5,6
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	46	45	40,8	5,1	12,5
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	72	71	427,7	25,1	5,9
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	51	48	58,9	5,7	9,7
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasme G"	39	37	48,6	3,9	8,0
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	19	18	57,8	22,8	39,5
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	18	17	12,9	0,9	6,9
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	11	11	60,7	5,6	9,3
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1376</i>	<i>1296</i>	<i>41,4</i>	<i>21,7</i>	<i>52,5</i>

* : en raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus. Elle est fournie à titre indicatif.

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

Echantillons	Opération	Année	Titres (UI/ml)	
			le plus faible	le plus élevé
Titre autour de 25 UI/ml :				
0805-0806-0809-0810	08PAR1	2008	14,4 *	288,4 ***
0701-0702-0709-0710	07PAR1	2007	12,9 *	270,3 ***
0605-0606	06PAR1	2006	11,4 *	219,6 ***
0601-0602	06PAR1	2006	14,3 *	244,0 ***
0501-0502-0503-0504	05PAR1	2005	13,0 *	63,8 **
0419-0420	04PAR2	2004	12,6 *	61,4 **
Titre autour de 40 UI/ml :				
0807-0808-0811-0812	08PAR1	2008	19,8 *	427,7 ***
0423-0424	04PAR2	2004	23,2 *	137,7 **

* : titre moyen obtenu avec ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"

** : titre moyen obtenu avec SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"

*** : titre moyen obtenu avec ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 1998 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (89,4%), soit avec deux réactifs (10,6%).

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>	2066 (93,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	749
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	618
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	182
SIEMENS "ToxoM/ADVIA Centaur"	97
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgM"	70
ROCHE "Elecsys/modular Toxo M"	111
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	80
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasrose M"	62
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	27
SIEMENS "Immulite toxoplasrose M"	12
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	14
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	13
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	14
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasrose IgM"	4
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	1
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	10
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	1
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	1
<u>LATEX :</u>	52 (2,4%)
FUMOUCHE "Toxolater"	35
BIORAD "Pastorex Toxo"	15
SERVIBIO "Servitex Toxo"	2
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.):</u>	35 (1,6%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</u>	24 (1,1%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>ISAGA :</u>	21 (1,0%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	11(0,5%)
Total	2209 (100%)

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

Echantillons 0801-0802 et 0803-0804

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1369	38	14	12	59	10	1502
Limite	2						2
Total	1371	38	14	12	59	10	1504

Echantillons 0805-0806 et 0809-0810

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1360	14	14	18	4	6	1416
Limite	2						2
Positif	3				6		9
Total	1365	14	14	18	10	6	1427

Echantillons 0807-0808 et 0811-0812

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1358	13	14	17	4	6	1412
Limite	1			1			2
Positif	5	1			4		10
Total	1364	14	14	18	8	6	1424

3 - Cas clinique

Depuis 2004 (opération 04PAR2), le cas clinique suivant : « prélèvement d'une 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 XXIII).

Les conclusions choisies par les biologistes pour les échantillons « IgG et IgM négatifs » lors des cinq opérations de contrôle 04PAR2, 05PAR1, 06PAR1, 07PAR1 et 08PAR1 sont illustrées figure 1.

Les conclusions apportées pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif » sont détaillées dans le tableau XXIV et comparées à celles obtenues lors d'opérations précédentes pour des échantillons de titres similaires.

tableau XXIII - 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 1 : Conclusions des biologistes pour les patientes
"IgG et IgM négatives"

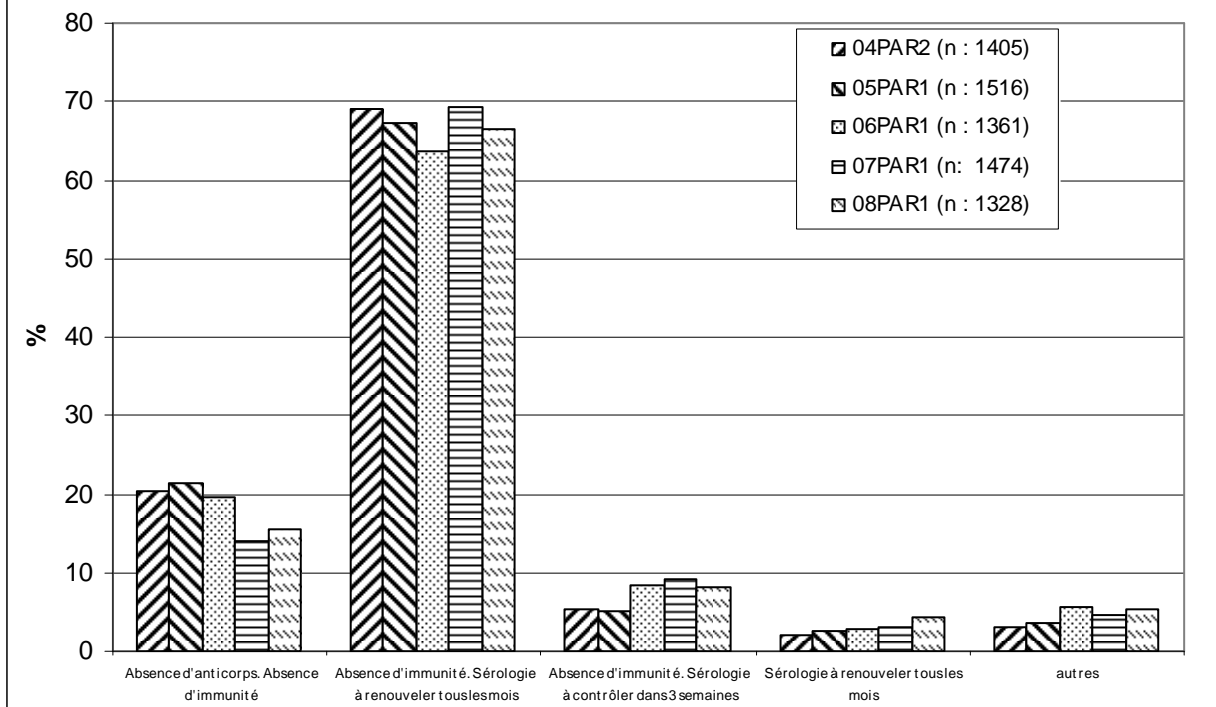


tableau XXIV - Conclusions des biologistes pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif »
Comparaison avec les échantillons de titre similaire des opérations précédentes

Echantillon	0501	0601	0605	0701	0805	0423	0807
	0502	0602	0606	0702	0806	0424	0808
Opération	0503	0602	0606	0709	0809		0811
Titre moyen (UI/ml)	0504			0710	0810		0812
Opération	05PAR1	06PAR1		07PAR1	08PAR1	04PAR2	08PAR1
Titre moyen (UI/ml)	22,3	21,2	21,8	25,0	26,5	44,3	41,4
Effectif	1450	707	714	1449	1341	715	1340
Conclusion (%) :							
TOX C + TOX H ou TOX C + TOX I	56,0	62,5	59,6	66,8	69,9	55,7	69,4
TOX C "immunité ancienne probable"	26,3	19,7	19,9	17,3	15,4	30,1	16,8
TOX H "sérologie à contrôler dans 3 semaines"	12,8	11,3	13,2	12,4	8,9	7,4	8,7
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	2,4	2,0	1,3	0,9	1,1	1,8	1,1
autres	2,5	4,5	6,0	2,6	4,7	5,0	4,0

Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, l'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0801-0802 et 0803-0804 montre l'absence de conclusions faussement positives (tableau XVII).

En ce qui concerne les deux échantillons positifs en IgG, on note trois faux négatifs pour l'échantillon 0805-0806-0809-0810 (tableau XVIII) et trois faux négatifs pour l'échantillon 0807-0808-0811-0812 (tableau XIX).

Ces erreurs sont le fait de quatre laboratoires : deux laboratoires ont rendu les deux échantillons « négatifs » ; l'un avec le latex BIORAD, l'autre avec le latex FUMOUCHE et deux laboratoires ont rendu un seul échantillon « négatif » sur les deux testés ; l'un avec le latex BIORAD, l'autre avec le VIDAS.

Par ailleurs, 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). Jusqu'en 2005, pour un même échantillon, le rapport entre le titre le plus élevé et le titre le plus faible obtenus respectivement avec les réactifs BAYER Advia Centaur et ABBOTT AxSYM, s'établissait autour de 5. Depuis l'introduction sur le marché du réactif ROCHE « Elecsys/modular » en 2006, ce rapport est passé à 20 voire 27 (cf Annales 07PAR1) 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 4355 tests réalisés par l'ensemble des 1998 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 19 (0,44%) conclusions incorrectes « positif » (tableau XXII). Six laboratoires ont rendu les deux échantillons testés faussement « positif » et cinq laboratoires ont rendu un seul échantillon « positif » sur les deux testés. Les réactifs correspondants aux 19 faux positifs sont par ordre de fréquence décroissant : FUMOUCHE Toxolax (10), ABBOTT AxSYM (3), BIOMERIEUX Vidas compétition (2), SIEMENS Immulite 2000 (2), BIOMERIEUX Vidas (1), FUMOUCHE TOXO-HAI (1).

Il faut noter que les latex (« Toxolax », « 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, à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM anti-toxoplasme, sur chaque échantillon est de 96,9% (+0,7% par rapport à l'opération précédente 07PAR1).

Sur les 1328 laboratoires concernés par les échantillons « IgG et IgM négatifs », on note que (figure 1):

- 66,6% ont rendu la conclusion attendue dans le contexte clinique d'un sérodiagnostic initial en début de grossesse : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois » (TOX A + TOX F) et 8,1% ont rendu une conclusion très proche, également considérée comme acceptable : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX A + TOX H).
- 20% ont rendu une interprétation correcte mais incomplète (TOX A seule ou TOX F seule),

Soit, au total, 94,7% de conclusions correctes, score similaire à celui obtenu lors des opérations précédentes (94,5% en 2006 et 95,3% en 2007).

Pour les deux 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 environ 69,7% des laboratoires (+3,7% par rapport à 2007). On n'observe pas de lien entre le titre moyen en IgG de l'échantillon et le pourcentage d'interprétations correctes (tableau XXIV).

Enfin, le statut d'immunité ancienne (TOX C) hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif » est signalé par 86,2 à 87,2% des laboratoires selon l'échantillon considéré.

Sérologie du paludisme

Définition de l'échantillon

Proposée pour la douzième fois depuis 1986 (année d'introduction de cette analyse dans le cadre du contrôle national de qualité), la sérologie du paludisme a concerné 62 laboratoires ayant déclaré la réaliser sur leur site. Un échantillon E921 contenant 1 ml de plasma défibriné lyophilisé a été adressé à chacun d'entre eux.

Les résultats de l'expert (Dr J.C. PETITHORY - Gonesse) sont les suivants :

Echantillon E921 : moyennement positif ++ : titre moyen de 320 en immunofluorescence indirecte avec l'antigène *Plasmodium falciparum*.

Résultats des participants

Sur 62 laboratoires inscrits pour cette analyse, 61 ont renvoyé leur bordereau réponse dans les délais. Parmi eux, 10 ont indiqué qu'ils n'effectuaient plus cette analyse et 2 n'ont pas donné de résultats sans en préciser la raison.

Le bilan des techniques et réactifs employés par les 49 laboratoires participants montre que la majorité d'entre eux (41/49) utilisent une seule technique de dépistage (IFI : 36 ou ELISA : 5). Seuls huit laboratoires utilisent deux réactifs : dans tous les cas, il s'agit d'une technique IFI, complétée par une technique ELISA (7 laboratoires) ou une électrosynérèse (1 laboratoire).

La place occupée par chaque réactif dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie du paludisme est détaillée dans le tableau XXV : l'IFI, réalisée en majorité avec le réactif Falciparum Spot IF de BIOMERIEUX garde une place prépondérante tandis que l'unique réactif ELISA « Malaria Antibody Test de DIAMED » mis sur le marché fin 2004 continue de progresser.

Le détail des titres obtenus avec le réactif le plus utilisé « Falciparum spot IF » est indiqué dans le tableau XXVI.

tableau XXV - Part (en %) des différentes techniques utilisées par les laboratoires depuis 2003

Techniques / Réactifs	2003 (n : 68)	2006 (n : 63)	2007 (n : 60)	2008 (n : 57)
Immunofluorescence indirecte :	67 (98,5%)	51 (80,9%)	46 (76,6%)	44 (77,2%)
Falciparum Spot IF / BIOMERIEUX	39 (57,3%)	38 (60,3%)	40 (66,6%)	38 (66,7%)
Paludix / DIAGAST	7 (10,3%)	5 (7,9%)	1 (1,7%)	1 (1,7%)
« maison » / Ag P. falciparum	8 (11,8%)	4 (6,3%)	4 (6,6%)	3 (5,3%)
« maison » / Ag P. cynomolgi	3 (4,4%)	1 (1,6%)	-	-
réactif non précisé	10 (14,7%)	3 (4,8%)	1 (1,7%)	2 (3,5%)
ELISA : Malaria Antibody Test / DIAMED	0	11 (17,5%)	13 (21,7%)	12 (21,1%)
Electrosynérèse :	1 (1,5%)	1 (1,6%)	1 (1,7%)	1 (1,8%)

Tableau XXVI - Distribution des titres obtenus avec le réactif Falciparum Spot IF/ BIOMERIEUX

titre	40	80	160	200	320	640	1280	1600
Effectif (n : 37)	1	9	11	2	7	4	2	1

Commentaires

Les résultats obtenus en ELISA avec le réactif DIAMED sont tous positifs. La moyenne des ratios, non demandés mais précisés par quelques laboratoires, est de 3,6.

L'unique électrosynérèse est positive.

Concernant l'IFI, tous les participants ont conclu « positif », à l'exception de trois laboratoires qui ont interprété « limite », un titre de 80 obtenu avec le Falciparum spot IF BIOMERIEUX. On note que les titres obtenus avec ce réactif sont tous supérieurs ou égal à 40 (seuil de positivité du réactif) (tableau XXVI). La médiane et la moyenne géométrique sont respectivement égales à 160 et 209.