

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)
Bernard FORTIER (Hôpital de Brabois, Nancy)
Jean Claude PETITHORY (CHG, Gonesse)

Expédition : 15 novembre 2006

Clôture : 11 décembre 2006

Edition des compte-rendus individuels : 2 mars 2007

Paramètres contrôlés :

Frottis sanguin : *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium ovale*, *Loa loa*.

Coprologie : *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*, *Ancylostoma duodenale*, *Strongyloides stercoralis*.

Mycologie : *Trichosporon sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium sp.*

Sérologie de la toxoplasmose

Sérologie du paludisme

Nombre de laboratoires concernés* : 4060

Nombre de laboratoires participants** : 3918

* 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 1% d'hématies parasitées par *Plasmodium falciparum* (trophozoïtes et gamétocytes) a conduit à près de 95% de diagnostics d'espèce corrects : pourcentage identique à ceux obtenus lors des deux envois précédents d'un frottis similaire. Le second frottis parasité par *Plasmodium ovale* comportait tous les stades de maturation. En dépit d'une parasitémie relativement faible (0,1%), cette espèce a été identifiée par 83% des participants. Cependant, un laboratoire sur dix l'a confondu avec *P. vivax*, alors que la présence de schizontes sur le frottis rendait le diagnostic différentiel entre les deux espèces plus facile. Enfin, un troisième frottis parasité par *Loa loa* a été proposé. Cette microfilaire a été reconnue par 92% des participants.

La coprologie parasitaire comportait une identification de kystes d'*Entamoeba histolytica* / *E. dispar*. Le fait qu'ils aient été confondus dans 45% des cas avec des kystes d'*Entamoeba coli* est préoccupant. En revanche, près de 97% des participants ont reconnu des œufs d'ankylostomides dans la selle qui contenait des œufs d'*Ancylostoma duodenale* ; ce qui est un score habituel. Quant à l'identification des larves rhabditoïdes de *Strongyloides stercoralis*, adressées aux laboratoires pour la quatrième fois dans le cadre du CNQ, on observe une augmentation constante des diagnostics corrects qui passent progressivement de 77% en 1982 à 89% en 2006.

En ce qui concerne la mycologie, on note 81% de bons diagnostics pour *Trichosporon sp.*, ce qui correspond au score le plus élevé obtenu pour cette levure. Une souche d'*Aspergillus fumigatus* était également proposée. Si le diagnostic de genre reste stable et élevé (93%), on observe, avec 78% de bonnes réponses, une nette amélioration du diagnostic d'espèce (+ 18% par rapport aux deux envois précédents). Enfin, le diagnostic du genre *Fusarium sp.* est en progression constante et passe, en 20 ans et six envois, de 19% à 77% .

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2390 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 en IgG avec les différents réactifs immunoenzymatiques. Ceci en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI les IgG anti-toxoplasme. Quel que soit l'échantillon considéré, les titres les plus faibles sont observés avec l'Axsym d'ABBOTT tandis que les titres les plus élevés sont obtenus avec le réactif Elecsys de ROCHE (titre multiplié par 18 environ).

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

Frottis sanguin

1 - Echantillon BAKRI ou BENOS

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG.

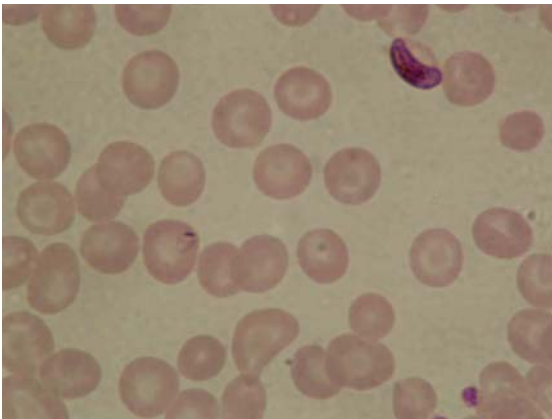
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr A. PAUGAM (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes et gamétocytes

Richesse du frottis : 0,5 à 1% d'hématies parasitées.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Antillaise ayant séjourné au Bénin, sous Nivaquine®, rentre en France et arrête la prophylaxie dès son retour.



Plasmodium falciparum
Trophozoïte et gamétocyte
Obj. 100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1218 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 trois envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P.falciparum* d'une richesse comparable et comportant uniquement les stades « trophozoïte » et « gamétocyte » sont rapportés dans le tableau II.

tableau I - Ensemble des réponses des 1218 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P.falciparum</i>	84,2	94,7 soit 96,8% des 1192 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		11,4	
Schizontes âgés		7,8	
Gamétocytes		82,8	
divers/non précisés		0,8	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		1,7
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		1,4
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,7
Absence de parasite			<0,1
Parasites divers			0,2
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			1,7

tableau II - Bilan des quatre opérations de contrôle « trophozoïtes + gamétocytes de *P. falciparum* » avec une parasitémie aux alentours de 1%.

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>P. falciparum</i> »	Autres espèces de Plasmodium	«absence de parasite»
2006	1218	0,5 - 1	94,7	3,8	< 0,1
2003	1313	0,6	95,1	4,8	0
1999	1323	0,5 - 1,5	94,0	4,4	< 0,1
1986	623	0,5 - 2	77,2	18,6	2,1

Commentaires

Ce frottis positif à *Plasmodium falciparum* dont la parasitémie était de 0,5 à 1 % a été bien identifié par 94,7 % des participants.

Le contexte clinique : « antillaise ayant séjourné au Bénin, sous Nivaquine® (chloroquine), rentre en France et arrête la prophylaxie dès son retour » devait faire suspecter le paludisme. La chloroquine n'est pas une chimioprophylaxie adaptée pour le Bénin qui est en zone 3, il aurait fallu lui prescrire soit de la méfloquine, soit l'association atovaquone-proguanil, soit une cycline. De plus, dans les rares pays d'Afrique classés en zone 1 pour lesquels la chloroquine peut être prescrite, la prophylaxie doit être impérativement poursuivie un mois après le retour. Pour connaître le niveau de résistance des pays d'endémie, il est recommandé de consulter le site du ministère des affaires étrangères, qui est régulièrement mis à jour (http://www.diplomatie.gouv.fr/fr/conseils-aux-voyageurs_909/index.html).

Sur le frottis, la coloration permettait de bien mettre en évidence, au sein des globules parasités, le noyau rouge du *Plasmodium* qui se distinguait du cytoplasme parasitaire coloré en bleu. En dehors des classique trophozoïtes dits « en bague à chaton », certains trophozoïtes pouvaient présenter un noyau étiré, parfois en voie de division (haltères) avec une vacuole plus ou moins visible. De rares trophozoïtes avaient un aspect marginé et faisaient hernie sur le bord du globule rouge et d'autres, dont le noyau était en position centrale, correspondaient à la forme dite en cocarde. Enfin, certains trophozoïtes avaient un cytoplasme dont les contours étaient mal définis faisant suspecter une altération due au traitement inadapté.

Dans tous les cas, les globules rouges parasités étaient de taille normale, sans pigment dans le cytoplasme. A la différence du frottis KERBE (dont le commentaire peut être consulté dans les annales 05PAR2), il n'a pas été observé de tache de Maurer. Ces éléments parasitaires (trophozoïtes uniquement) associés aux caractéristiques des hématies parasitées (taille normale, absence de granulation) conduisaient à conclure à *P. falciparum* en raison de l'aspect monotone du frottis. Ce diagnostic d'espèce pouvait être affirmé avec certitude en raison de la présence de gamétocytes ; la présence de gamétocytes est inconstante mais ceux-ci sont pathognomoniques de l'infection à *P. falciparum*. Ces gamétocytes sont faciles à repérer en raison de leur grande taille, qui déforme le globule rouge et de leur forme en croissant (stade parasitaire identifié par 82,8 % des participants). Pour finir, rappelons que les gamétocytes sont insensibles au traitement et que, par conséquent, leur seule présence ne doit pas être considérée comme le témoignage d'un échec thérapeutique.

A. PAUGAM, Hôpital Cochin, Laboratoire de Parasitologie - Paris.

2 - Echantillon DARSY ou DECK

Définition de l'échantillon

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

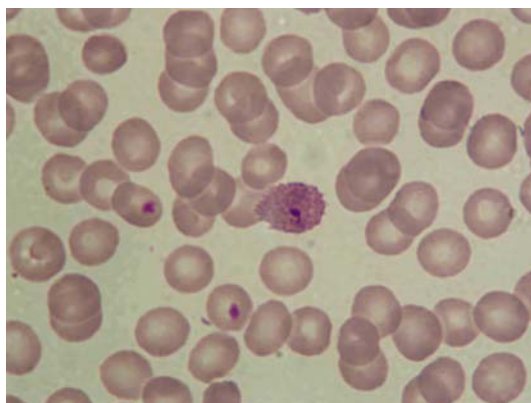
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium ovale*

Stade : Trophozoïtes, schizontes, gamétocytes.

Richesse du frottis : 0,1% d'hématies parasitées.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites chez un étudiant camerounais présentant un accès fébrile.



Plasmodium ovale
Trophozoïte + hématie forme ovalisée et frangée avec granulations de Schüffner.
Obj.100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1235 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 quatre envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. ovale* à tous les stades sont rapportés tableau IV.

tableau III - Ensemble des réponses des 1235 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	72,1	82,8 soit 84,6% des 1209 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Schizontes jeunes		32,9	
Schizontes âgés		30,4	
Gamétocytes		24,4	
divers/non précisés		1,0	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	7,7	10,6
Schizontes jeunes		3,2	
Schizontes âgés		3,7	
Gamétocytes		2,9	
divers/non précisés		0,2	
divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		2,8
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		2,4
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			0,2
Parasites divers			0,2
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			1,5

tableau IV - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Plasmodium ovale* » à tous les stades.

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> »	« <i>P. malariae</i> »
2006	1235	0,1	82,8	10,6	2,8	2,4
2000	1288	0,1 - 0,3	79,3	15,8	1,7	2,4
1998	1307	0,05 - 0,2	85,7	10,1	1,2	1,2
1995	1267	0,05 - 0,2	65,7	19,4	0,7	2,7
1985	1022	< 0,1	48,7	35,0	2,9	9,0

Commentaires

Il s'agit d'un patient originaire du Cameroun (Afrique de l'Ouest). Le frottis présente un nombre peu important d'hématies parasitées (0,1 %) par des éléments à différents stades de *Plasmodium ovale*. Les hématies parasitées sont pour certaines légèrement augmentées de taille, d'autres sont ovalisées ou frangées. Dans le cytoplasme apparaissent, dès le stade trophozoïte, des granulations de Schüffner punctiformes. Les trophozoïtes jeunes ont un gros noyau étalé, le cytoplasme est épais. Au stade de trophozoïtes âgés, le cytoplasme se déforme, prend une forme oblongue mais non amiboïde (différence avec le *Plasmodium vivax*). Les schizontes donnent à la rosace un aspect boursoufflé ; on compte de 8 à 12 noyaux par rosace. Les gamétocytes sont assez petits et ronds ; il peuvent présenter pour certains quelques grains grossiers de pigments.

Compte tenu des éléments cytologiques, le diagnostic d'espèce : *Plasmodium ovale* est confirmé par l'origine géographique du patient. *Plasmodium ovale* est présent en Afrique de l'Ouest, Afrique centrale, mais il existe également des foyers en extrême orient, aux Philippines, à Madagascar et en Afrique du Sud.

Il est à noter que l'infection à *Plasmodium ovale* a une incubation qui peut être longue, elle est décrite cliniquement comme la « fièvre tierce » et des rechutes tardives peuvent survenir jusqu'à cinq ans.

M. FONTRouGE, Centre Hospitalier, Laboratoire - 95500 Gonesse

3 - Echantillon KABA ou KEITA

Définition de l'échantillon

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

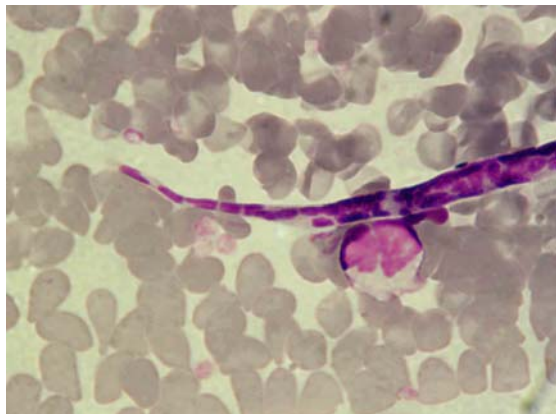
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Loa loa*

Stade : Microfilaire

Richesse du frottis : 1 à 9 microfilaires.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites chez un camerounais présentant un œdème de Calabar.



Loa loa

Extrémité postérieure avec le dernier noyau terminal. La gaine présente n'est pas colorée.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1235 laboratoires participants (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 des dix envois précédents d'un frottis parasité par *Loa loa* sont rapportés dans le tableau VI.

tableau V - Ensemble des réponses des 1235 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Microfilaire	<i>Loa loa</i>	85,8	92,4 soit 95,0% des 1200 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Larve		2,2	
Adulte		2,4	
divers/non précisés		1,9	
divers/non précisés	<i>Mansonella perstans</i>		2,2
Microfilaire	espèces autres		1,4
Microfilaire	espèce non précisée		0,2
Protozoaires divers			0,8
Absence de parasite			0,9
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			2,3

tableau VI - Bilan des onze opérations de contrôle « *Loa loa* ».

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 »
2006	1235	1 - 9	92,4	2,2	1,4	0,9
2003	1270	1 - 14	93,7	2,3	1,7	0,3
1999	1332	5 - 30	77,5	11,3	7,7	1,4
1998	1297	10 - 30	80,2	6,8	7,8	1,1
1996	1307	10 - 50	78,5	9,0	7,4	0,5
1994	1196	1 - 5	81,8	6,4	6,9	1,9
1991	1088	1 - 10	70,6	8,8	6,5	9,4
1987	1078	2 - 5	75,0	8,5	4,9	5,2
1984	1078	2 - 50	80,5	7,5	5,6	1,5
1981	732	8 - 20	71,8	4,4	6,6	6,0
1979	1594	10 - 20	70,2	3,5	13,6	1,7

*: nombre de microfilaires par frottis (min - max)

Commentaires

Les frottis sanguins KABA et KEITA contiennent des microfilaires de *Loa loa* (richesse 1 à 9 microfilaires par frottis). Ces frottis ont été réalisés à partir du sang d'un patient camerounais présentant un œdème de Calabar.

Sur frottis sanguin coloré au May-Grünwald-Giemsa, les microfilaires sont judicieusement repérées au faible grossissement (objectif X10), en observant plus particulièrement les franges et les bords. Le diagnostic d'espèce est porté à plus fort grossissement, sur les critères suivants :

- taille
- présence ou non d'une gaine : colorable ou non,
- disposition du dernier noyau somatique par rapport à l'extrémité postérieure,
- longueur de l'espace céphalique situé entre l'extrémité antérieure et le premier noyau somatique,
- aspect des noyaux somatiques,
- présence ou non d'un corps interne.

Les microfilaires de *Loa loa* sont reconnaissables par leur grande taille (230-300 µm sur 7,5-10 µm). Elles possèdent une gaine : mal colorable au M.G.G., que l'on devine néanmoins, notamment aux extrémités, par le fait que les hématies ne se collent pas à la cuticule (paroi externe du corps de la microfilarie). L'extrémité postérieure est remarquable par son noyau terminal (dernier noyau somatique au contact de l'extrémité postérieure de la cuticule). L'espace céphalique est court (longueur inférieure à la largeur de la larve). Les noyaux somatiques : gros, serrés, se chevauchent, rendant peu visible le corps interne. Si la coloration au M.G.G. est réalisée à pH 7,2, le corps interne est plus facilement coloré, en violet foncé, sous forme d'une masse unique allongée d'environ 30 µm. Mais il peut aussi être réduit à des masses granuleuses plus ou moins nombreuses, difficilement distinguables des noyaux somatiques.

En Afrique subsaharienne, on peut observer d'autres microfilaires sanguicoles :

- larves de filaire lymphatique *Wuchereria bancrofti*, à périodicité nocturne. De taille voisine, elles se distinguent des microfilaires de *Loa loa* : de par leur gaine colorée en rose au M.G.G., leurs noyaux somatiques plus petits bien séparés les uns des autres et la présence d'un noyau subterminal à l'extrémité postérieure.

- larves de filaire péritonéale non pathogène *Mansonella perstans*. De taille plus petite (190-240 µm sur 4,5 µm), elles ne possèdent pas de gaine. Bien que terminal, le dernier noyau somatique est caractéristique dit « en doigt de gant » (en forme de demi-cercle dont l'arrondi postérieur est collé à la cuticule). Les confusions sont fréquentes avec les microfilaires de *Loa loa* : notamment en raison de la non coloration de la gaine chez *Loa loa*, induisant le biologiste en erreur parce qu'il pense observer une microfilarie dépourvue de gaine. Toutefois la différence de taille et les caractéristiques des extrémités postérieures doivent ôter le doute, sachant que ces deux microfilaires peuvent coexister sur un même frottis sanguin en raison d'une répartition géographique similaire en Afrique.

La loase est une filariose strictement africaine, observée que dans la partie occidentale de l'Afrique Noire : Cameroun, Gabon, Congo Brazzaville, Congo Démocratique (ex Zaïre)... C'est la femelle hématophage d'un *Chrysops* qui transmet la maladie. Cet insecte pique le jour au zénith, prélevant ainsi chez un homme malade les microfilaires présentes dans le sang périphérique le jour vers midi. Après une dizaine de jours d'évolution chez l'insecte, les microfilaires devenues infectantes dans les trompes du taon, vont traverser la peau à l'occasion d'une nouvelle piqûre. Elles deviennent progressivement adultes en quelques mois et serpentent sous la peau ou sous la conjonctive, entraînant des œdèmes de Calabar (prurigineux, fugaces et migrants). L'hyperéosinophilie sanguine est présente dans les formes récentes.

Le diagnostic de certitude est basé sur la recherche des :

- vers adultes, si par chance ils peuvent être extraits lors de leur migration sous-conjonctivale.
- microfilaires lors de leur passage (maximal vers midi), dans le sang périphérique (prélevé sur complexon ou citrate afin de ne pas abîmer les larves). En cas de faible parasitémie, il est judicieux de les rechercher par une technique de concentration (étudiant une plus grande quantité de sang qu'un simple étalement d'un frottis). Les larves ainsi extraites sont ensuite colorées au M.G.G. pour leur identification morphologique.

Le diagnostic sérologique est indiqué chez des patients présentant des symptômes évocateurs avec recherches directes du parasite restées négatives. Les résultats sont obtenus avec des antigènes hétérologues, de filaire animale (*Dipetalonema vitae*) ou d'ascaris de porc (*A. suum*), du fait des réactions croisées fréquentes avec les autres filaires voire d'autres nématodes.

Le traitement repose sur 2 molécules microfilaricides : l'ivermectine (*Stromecto*®, *Mectizan*®) ou la diéthylcarbazine (*Notézine*®) d'action plus puissante. La lyse brutale des microfilaires libère de grandes quantités d'antigènes, à l'origine de réactions allergiques plus ou moins graves pouvant aller

jusqu'à provoquer une encéphalite mortelle, en particulier si la parasitémie est supérieure à 50 microfilaires par μ l. Aussi, le biologiste doit numérer les microfilaires de *Loa loa* présentes dans le sang, à l'acmé de la microfilarémie (midi) avant la mise en route du traitement. Le traitement par la diéthylcarbamazine est institué en milieu hospitalier, à dose progressive, sous couverture de corticoïdes et antihistaminiques, après avoir fait diminuer la charge parasitaire par l'administration en première intention d'Ivermectine, voire si la charge parasitaire est très élevée après exsanguino-transfusion.

G. GALÉAZZI, Hôpital Louis Mourier, Laboratoire de Parasitologie - 92701 Colombes.

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon BONY ou BIZET

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

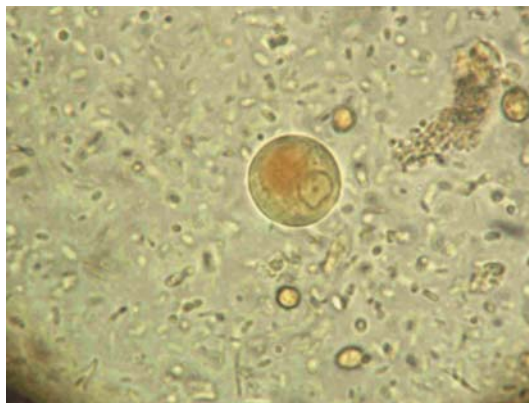
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr F. ARDOUIN (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr J-F. PAYS (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Entamoeba histolytica* / *Entamoeba dispar*

Stade : kyste

Richesse de la selle : 1 à 2 champs au x 40 pour trouver un kyste.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche systématique de parasites intestinaux chez une métropolitaine de retour du Cameroun, ne présentant pas de diarrhée.



Entamoeba histolytica / *Entamoeba dispar*
Kyste à un noyau avec vacuole colorée par le Lugol.



Entamoeba histolytica / *Entamoeba dispar*
Kyste à quatre noyaux dont deux sont visibles

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1218 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 quatre envois précédents d'une selle contenant des kystes d'*Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar* sont rapportés dans le tableau VIII.

tableau VII - Ensemble des réponses des 1218 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Kyste	<i>E. histolytica</i> / <i>E. dispar</i>	18,3	18,6 soit 18,9% des 1179 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Forme végétative		1,1	
divers/non précisés		0,2	
Kyste	<i>Entamoeba histolytica</i>	18,6	18,8
Forme végétative		0,3	
divers/non précisés		0,3	
Kyste	<i>E. dispar</i>	12,2	13,0
Forme végétative		0,6	
divers/non précisés		0,2	
Kyste	<i>Entamoeba coli</i>	44,4	45,0
Forme végétative		0,8	
divers/non précisés		0,4	
divers/non précisés	<i>Endolimax nanus</i>		3,5
divers/non précisés	<i>E. hartmanni</i>		3,4
divers/non précisés	<i>E. polecki</i>		0,8
Protozoaires divers			1,4
Helminthes divers			0,4
Absence de parasite			1,1
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			2,8

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

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>E. histolytica</i> /« <i>E. dispar</i> » ou « <i>E. histolytica</i> » ou « <i>E. dispar</i> »	« <i>Entamoeba coli</i> »	« absence de parasite »
2006	1218	1 - 2	50,4	45,0	1,1
1997	1217	1 - 3	29,3	39,8	11,2
1994	1188	2 - 5	33,7	32,2	4,1
1989	1152	2 - 10	52	24,6	4,9
1980	1420	1 - 5	56	25,7	0,7

* : nombre de champs au X40 pour trouver un kyste

Commentaires

L'existence de deux espèces morphologiquement voisines dont l'une serait pathogène (*Entamoeba histolytica*) et l'autre non pathogène (*Entamoeba dispar*) a été décrite dès 1925 par le français Emile BRUMPT et confirmé environ 60 ans plus tard par P. SARGEAUNT.

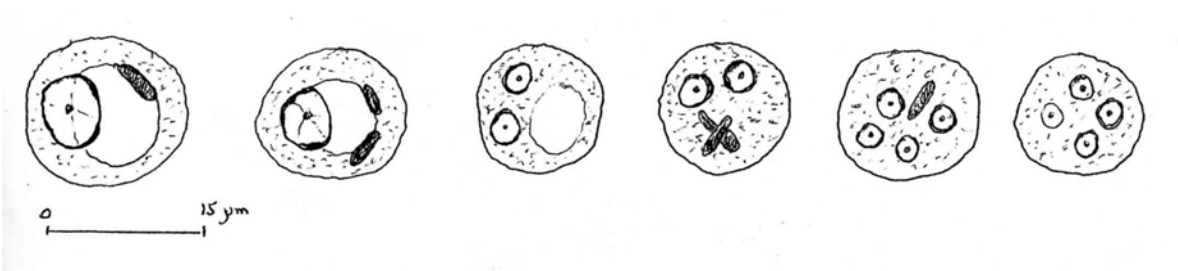
Les kystes de 12 à 15 microns en moyenne sont arrondis, parfois ovalaires, nets, assez épais et réfringents (mais moins que ceux d'*Entamoeba coli*). Le kyste se détache comme une perle sur le fond de la préparation. Ces kystes contiennent parfois des cristoïdes trapus, à extrémités arrondies, en saucisse de taille variable, incolores et réfringents. Ils se rencontrent surtout dans les kystes jeunes et disparaissent au fur et à mesure de la maturation de ces derniers. Ces kystes peuvent contenir de un à quatre noyaux (schéma 1).

Le kyste à un noyau peut contenir ou non une vacuole. Le noyau occupera 1/3 environ du diamètre du kyste, les cristoïdes lorsqu'ils existent se trouvent sur le pourtour de la vacuole.

Le kyste à deux noyaux peut posséder ou non une vacuole. Les deux noyaux se trouvent le plus souvent côte à côte et non diamétralement opposés par rapport à celle-ci comme c'est le cas pour *Entamoeba coli*.

Le kyste à quatre noyaux est le kyste mûr. Il est rare qu'on arrive à voir les quatre petits noyaux à l'état frais. Il peut exister encore des cristoïdes ou une vacuole à ce stade, dans ce cas les noyaux sont groupés deux par deux.

Schéma 1 : Kystes d' *E. histolytica* / *E. dispar*



Le diagnostic au microscope optique des kystes ne permet pas de différencier les deux espèces *E. histolytica* et *E. dispar*. En l'absence de formes végétatives hématophages qui signent le diagnostic d'*Entamoeba histolytica* et qui sont actuellement le seul argument formel dont le biologiste dispose, la réponse doit être : présence de kystes d'*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*.

Dans cette selle, l'examen à l'état frais ne permettant pas ou peu de visualiser les noyaux et la vacuole, il fallait ajouter une goutte de lugol double à 1 % pour les colorer. Par contre, il n'y avait pas ou peu de corps sidérophiles.

Pour cette analyse, en additionnant les réponses « kystes d'*Entamoeba histolytica* », « kystes d'*Entamoeba dispar* » et « kystes d'*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* » nous arrivons à 50 % de résultats conformes. Ce score est nettement supérieur à celui obtenu lors de l'opération précédente en 1997 (29%).

La principale confusion s'est faite avec les kystes d'*Entamoeba coli* (45 % des participants). La taille, l'examen des kystes à deux noyaux en particulier (noyaux diamétralement opposés, réniformes car déformés par écrasement de la vacuole centrale dans le cas d'*Entamoeba coli*) aurait dû l'éviter.

Cette selle, pour les cinq experts en coprologie parasitaire qui l'ont examinée, ne contenait que des kystes d'*Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. Elle ne contenait pas d'*Entamoeba coli*.

CONFUSION ENTAMOEBEA COLI AVEC ENTAMOEBEA HISTOLYTICA/E. DISPAR

En ce qui concerne le diagnostic d'*Entamoeba coli*, se reporter aux commentaires parus dans les Annales du Contrôle National de Qualité en Parasitologie (1).

Cette confusion peut s'expliquer par plusieurs éléments :

Les données cliniques : l'absence de troubles cliniques notamment de diarrhées et le caractère systématique de l'examen de selles orienté vers une amibe non pathogène, comme par exemple *Entamoeba dispar* et *Entamoeba coli* et n'est pas en faveur d'*Entamoeba histolytica*.

L'aspect microscopique des kystes : de forme arrondie, parfois ovalaire ; ils font effectivement envisager le diagnostic d'*Entamoeba coli*. Par contre :

- l'aspect des corps cristalloïdes, en forme de saucisse, courts, trapus, extrémités arrondies.
- le nombre de noyaux, de 1 à 4, exceptionnellement 8.
- l'aspect des noyaux avec un petit caryosome central et la disposition de la chromatine périphérique sont caractéristiques d'*Entamoeba dispar*/*Entamoeba histolytica*.

ENTAMOEBEA HISTOLYTICA OU ENTAMOEBEA DISPAR ?

Nous rappelons d'abord qu'*Entamoeba dispar*, amibe non pathogène, fut décrite par Emile Brumpt en 1925 (2) à partir de données épidémiologiques et expérimentales. Cette nouvelle et importante espèce fut méconnue jusqu'à ce que Sargeant par l'étude des zymodèmes entre 1978 et 1992 (3,4,5) en confirme l'existence. La première étude française reprenant ces résultats et constatant qu'il s'agissait bien de deux espèces différentes est parue en 1994 (6). La même année, un envoi a été réalisé dans le cadre du Contrôle National de Qualité en Parasitologie, suivi d'un compte rendu détaillé dans les Annales (7).

Il est certain que des millions de personnes depuis 1925 ont été traitées inutilement par l'émétine qui entraînait une mortalité par atteinte cardiaque.

Les données récentes sur ces deux espèces ont fait l'objet d'une importante mise au point de l'Organisation Mondiale de la Santé en 1997 (8). Nous en reproduisons ci-dessous les éléments qu'il est indispensable aux biologistes pratiquant la parasitologie des selles de connaître.

« TAXONOMIE D'ENTAMOEBEA

On définit actuellement l'amibiase comme l'infection par un protozoaire parasite, *Entamoeba histolytica*. Les amibes, normalement hébergées dans le gros intestin, traversent parfois la muqueuse intestinale et peuvent envahir d'autres organes ; les facteurs déclenchant cette invasion sont inconnus.

E. histolytica est à l'origine chaque année d'un nombre de décès atteignant jusqu'à 100 000, ce qui la place derrière le paludisme pour la mortalité imputable à des protozoaires parasites. On sait depuis longtemps qu'un grand nombre de personnes apparemment infectées par *E. histolytica* ne manifestent jamais de symptômes et voient leur infection spontanément disparaître. Certains chercheurs interprétaient le phénomène comme une indication de la variabilité de la virulence du parasite ; en 1925, cependant, Emile Brumpt suggère que deux espèces parasitaires seraient en cause - l'une capable de provoquer une pathologie invasive, l'autre qui ne provoque jamais de maladie et qu'il appelle *E. dispar* - L'hypothèse a été rejetée par ses contemporains mais, dans les années 70, des arguments étayant cette hypothèse commencent à s'accumuler. Des données biochimiques, immunologiques et génétiques se sont par la suite ajoutées et, en 1993, une nouvelle description officielle d'*E. histolytica* est publiée, la distinguant d'*E. dispar* ».

Pour évaluer les répercussions de ces derniers travaux, une consultation d'experts OMS/OPS/UNESCO sur l'amibiase s'est tenue les 28 et 29 janvier 1997 à Mexico. On trouvera ci-dessous un extrait des conclusions :

- Les données biochimiques, immunologiques et génétiques donnent maintenant à penser qu'il existe deux espèces possédant les caractères morphologiques mentionnés ci dessus - *E. histolytica* et *E. dispar*. Seule *E. histolytica* est capable de provoquer une maladie invasive. A l'avenir, la dénomination *E. histolytica* doit être exclusivement réservée à cette forme.
- Lorsque le diagnostic est fait en microscopie optique, il est impossible de distinguer les kystes des deux espèces (10 à 16 µm de diamètre) et le diagnostic porté sera donc *E. histolytica* / *E. dispar*.
- La présence de formes végétatives contenant des hématies phagocytées dans des échantillons de selles fraîches, ou de formes végétatives dans les biopsies tissulaires, est fortement corrélée à la présence d'*E. histolytica* et à une pathologie invasive.
- Chez les sujets symptomatiques, la présence d'anticorps spécifiques à titre élevé est également fortement corrélée à l'amibiase invasive.
- Il existe dans le commerce des tests de recherche des antigènes fécaux. Pour l'heure, ces tests identifient spécifiquement *E. histolytica* ; d'autres tests reposant sur cette méthode ou sur d'autres technologies sont en cours de développement.

Recommandations :

- L'idéal est d'identifier spécifiquement *E. histolytica* et, le cas échéant, de traiter les infections.
- Si seule *E. dispar* est identifiée, aucun traitement n'est nécessaire. Devant des symptômes gastro-intestinaux chez le sujet parasité, on recherchera d'autres causes.
- L'identification des espèces par culture ne permet jamais d'exclure la présence de *E. histolytica*.

- Chez le sujet asymptomatique, le traitement n'est pas approprié lorsque *E. histolytica*/*E. dispar* a été spécifiquement observée, sauf devant des arguments en faveur d'une infection présumée à *E. histolytica*, notamment titres d'anticorps spécifiques élevés, antécédents de contacts étroits avec un cas d'amibiase invasive ou flambée d'amibiase.
- Si *E. histolytica*/*E. dispar* a été décelée chez un patient symptomatique, il ne faut pas présumer que *E. histolytica* est la cause des symptômes et d'autres explications seront également recherchées. »

J.C. PETITHORY et P. JOUSSERAND, Centre Hospitalier, Laboratoire - 95500 Gonesse

Bibliographie

- (1) Gobert J.G. *Entamoeba coli*. *Ann. Contr. Nat. Qual.*, 1997, **9**, 71-74.
- (2) Brumpt E. Etude sommaire de l'*Entamoeba dispar* n.sp., amibe à kystes quadri nucléés, parasite de l'homme. *Bull. Acad. Méd.*, 1925, **94**, 942-952.
- (3) Sargeaunt P.G., Williams J.E., Greene J.D. The differentiation of invasive and non-invasive *Entamoeba histolytica* by isoenzyme electrophoresis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1978, **72**, 519-521.
- (4) Sargeaunt P.G., Williams J.E. Electrophoretic isoenzyme patterns of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba coli*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1978, **72**, 164-166.
- (5) Sargeaunt P.G. *Entamoeba histolytica* is a complex of two species. *Austr. Microbiol.*, 1992, **13**, 359-361.
- (6) Petithory J.C., Brumpt L.C., Poujade F. *Entamoeba histolytica* (Schaudinn 1903) et *Entamoeba dispar* (E. Brumpt 1925) sont deux espèces différentes. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 1994, **87**, 231-237. Communication au 4^{ème} Congrès international de médecine tropicale de novembre 1993.
- (7) Petithory J.C. *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*. *Ann. Contr. Nat. Qual.*, 1995, **4**, 19-22.
- (8) World Health Organization. *Bull WHO*, 1997, **75**, 291-292.

2 - Echantillon DHENIS ou DIALE

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 C. CHAUMEIL (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Ancylostoma duodenale*

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 intestinaux chez un pakistanais présentant épisodiquement quelques troubles digestifs et ayant une anémie avec $3,5 \cdot 10^{12}$ hématies/l.



Œuf *Ancylostoma duodenale*

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1235 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 de l'envoi précédent d'une selle contenant des œufs d'*Ancylostoma duodenale* sont rapportés dans le tableau X.

tableau IX – Ensemble des réponses des 1235 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Oeuf	<i>Ancylostoma duodenale</i>	51,0	52,1 soit 53,5% des 1203 laboratoires ayant rendu un diagnostic
divers/non précisés		1,4	
Oeuf	<i>Necator americanus</i>	25,1	25,4
divers/non précisés		0,3	
Oeuf	ankylostomidés	19,0	19,4
divers/non précisés		0,6	
helminthes divers			0,8
protozoaires divers			1,1
PAS DE REPONSE			0,6
EXAMEN TRANSMIS			2,0

tableau X - Bilan des deux opérations de contrôle «œufs d'*Ancylostoma duodenale*».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :			
			« <i>A. duodenale</i> »	« <i>N. americanus</i> »	ankylostomidés	Total
2006	1235	5 - 10	52,1	25,4	19,4	96,9
1984	1110	4 - 20	59,5	5	33	97,5

* : nombre d'œufs au X40 par lamelle 22X22

Commentaires

96,9 % des participants ont indiqué la présence d'œufs d'ankylostomidé, bonne réponse qui permet la mise en route d'un traitement adapté. La majorité d'entre eux ont précisé l'espèce : *Ancylostoma duodenale* (52,1%) et *Necator americanus* (25,4 %). Cependant, un sur cinq (19,4 %) s'est abstenu de préciser l'identification de l'ankylostome, le diagnostic de certitude est en effet difficile à l'examen microscopique et ne se fait qu'après culture et examen des larves ce qui est impossible sur des selles formolées.

L'ankylostomiase à *A. duodenale* est présente dans les pays chauds et humides (Asie : Nord de l'Inde, Pakistan, Nord de la Chine et Taïwan, au Moyen-orient et dans le bassin Méditerranéen, en Côte d'Ivoire).

N. americanus est d'origine africaine d'où il a gagné les Amériques. Il est présent en Afrique avec une prévalence plus élevée en Afrique sub-saharienne et sur le continent américain : sud des USA, Antilles, Amérique du Sud. Il est également présent en Asie : sud de l'Inde, Chine, Vietnam et endémique en Océanie.

A. duodenale est un petit helminthe rond, hématophage, parasite de l'intestin (duodénum) dans la muqueuse duquel il se fixe au moyen de sa capsule buccale, provoquant des saignements.

La femelle mesure de 10 à 18 mm et le mâle de 8 à 11 mm, la reproduction a lieu dans l'intestin grêle, les femelles pondent des œufs qui sont retrouvés dans les selles. Dans le milieu extérieur, si celui-ci est favorable (environnement chaud et humide), les œufs donnent naissance à des larves rhabditoïdes puis strongyloïdes qui pourront parasiter un nouvel hôte après passage transcutané. Les larves passent ensuite par voie lymphatique et sanguine, atteignent l'artère pulmonaire, traversent la

paroi alvéolaire et remontent des bronchioles aux bronches et à la trachée d'où elles basculent dans le tube digestif. Elles se transforment ensuite en adulte dans l'intestin grêle.

Les ankylostomes sont responsables d'une anémie dont l'importance varie en fonction du parasite et de l'importance quantitative du parasitisme (voir tableau ci-dessous). Cette anémie peut être sévère si elle survient dans un contexte de malnutrition associée à une densité parasitaire importante.

L'anémie est plus modérée pour *N. americanus*. L'infestation par ce ver a d'ailleurs été utilisée pour traiter les malades atteints de polyglobulie avec d'excellents résultats (Lucien Brumpt, 1944).

En ce qui concerne le diagnostic parasitologique, les œufs d'*A. duodenale* mesurent environ 60/40 µm, la coque est transparente, lisse et mince. Ils contiennent 4 à 8 blastomères au moment de l'émission des selles, plus tardivement ils peuvent contenir un massif cellulaire puis une larve. Les œufs d'*A. duodenale* sont en principe légèrement plus courts et plus arrondis que ceux de *N. americanus* mais le diagnostic de certitude n'est effectué que par l'examen des larves strongyloïdes après culture.

	<i>Necator americanus</i>	<i>Ancylostoma duodenale</i>
Répartition géographique	sud de la Chine sud de l'Inde Vietnam Afrique sub-saharienne Antilles, sud des USA Australie	nord de la Chine nord ouest de l'Inde Europe Côte d'Ivoire Taïwan
Durée de vie chez l'homme	3 à 18 ans	2 à 6ans
Hémorragie intestinale	±	++
Perte quotidienne de sang par ver	0,03 ml	0,1 - 0,23 ml
Spoliation sanguine pour une infestation moyenne	1,3 ml	2,2 ml
Virulence chez l'homme	±	++

L'ankylostomiase est favorisée par le manque d'hygiène et l'humidité (saison des pluies), l'absence de chaussure ou la manipulation de la terre favorisent l'infestation. Les conditions sanitaires dans les régions pauvres rendent son éradication difficile.

C. CHAUMEIL, Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts, laboratoire - Paris.

3 - Echantillon KHALED ou KOTBI

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) est le suivant :

Nom du parasite : *Strongyloides stercoralis*

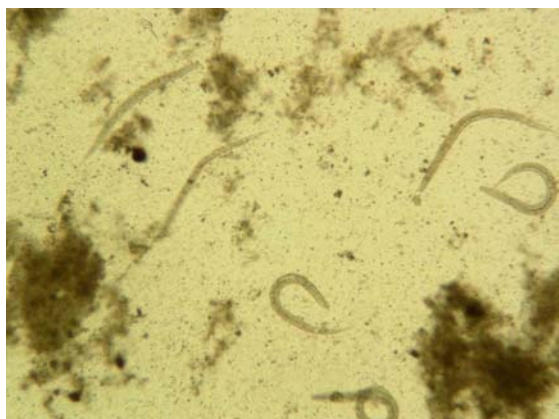
Stade : Larve rhabditoïde

Richesse de la selle : 6 à 12 larves par lamelle 22x22.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : examen systématique de selle chez un sénégalais présentant des manifestations rhumatismales nécessitant une corticothérapie.



Strongyloides stercoralis : larve rhabditoïde



Strongyloides stercoralis : larves rhabditoïdes

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1235 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XI.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des trois envois précédents d'une selle contenant uniquement des larves rhabditoïdes de *Strongyloides stercoralis* sont rapportés dans le tableau XII.

tableau XI – Ensemble des réponses des 1235 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Larve rhabditoïde	<i>Strongyloides stercoralis</i>	67,8	89,1 soit 92,8% des 1185 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Larve strongyloïde		11,7	
Larve		10,0	
divers/non précisés		1,5	
Larve rhabditoïde	<i>Ancylostoma duodenale</i>	1,1	2,4
Larve strongyloïde		1,0	
Larve		0,3	
divers/non précisés		0,2	
Larve rhabditoïde	<i>Necator americanus</i>	0,7	2,0
Larve strongyloïde		1,1	
Larve		0,1	
divers/non précisés		0,1	
Larves diverses	ankylostomidés	1,0	1,1
divers/non précisés		0,1	
Larves espèce non précisée			0,2
Nématodes divers			1,5
Protozoaires divers			0,6
Absence de parasite			0,2
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			3,6

tableau XII - Bilan des quatre opérations de contrôle «larves rhabditoïdes/*Strongyloides stercoralis* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse de la selle parasitée *	% de laboratoires ayant répondu :		
			« <i>S.stercoralis</i> »	« <i>A. duodenale</i> » ou « <i>N. americanus</i> » ou « ankylostomidés »	« absence de parasite »
2006	1235	6 - 12	89,1	5,5	0,2
1996	1318	20	84,1	12,3	0,8
1983	996	3 - 10	77,6	14,4	0,5
1982	1012	5 - 15	76,7	13,2	1,7

* : nombre de larves par lamelle 22X22

Commentaires

Les larves de *S. stercoralis* (anguillule) étaient nombreuses dans la selle KHALED ou KOTBI, faciles à trouver, elles le seront d'ailleurs par 9 participants sur 10. Les larves étaient toutes du stade rhabditoïde d'une taille de 250-300 µm de long sur 15 µm de large. L'œsophage a deux renflements : l'antérieur allongé, le postérieur arrondi. L'extrémité postérieure est modérément effilée.

Le seul diagnostic différentiel posé a été celui d'ankylostomidé : en ce qui concerne ces vers, ce sont les œufs qui sont éliminés dans les selles humaines, les larves n'étant obtenues qu'après coproculture ou un temps prolongé de conservation de la selle au laboratoire.

CORTICOTHÉRAPIE ET ANGUILLULOSE

C'est H. Gaillard (1) qui a montré en 1953 que la cortisone permettait d'infester par *S. stercoralis* des chiens normalement réfractaires et T. Cruz (2) en 1966 qui a rapporté les premiers cas de décès humain par strongyloïdose généralisée après corticothérapie.

Il est à noter par ailleurs que le S.I.D.A. ne favorise habituellement pas l'anguillulose généralisée (3).

Les corticoïdes entraînent une immunodépression, en particulier une lymphopénie, une diminution de la production d'interleukine 1 et une éosinopénie ce qui a pour conséquence la multiplication anormale de *S. stercoralis*. On peut avoir d'abord une hyper-infestation localisée à l'intestin correspondant à une forme sévère et ensuite une forme extra intestinale généralisée.

En l'absence de traitement anti-helminthique, l'évolution des formes généralisées est presque toujours mortelle, surtout si la corticothérapie est poursuivie. Le décès est alors dû à des complications septiques. Dans les formes généralisées le biologiste aura donc à rechercher les larves d'anguillules dans d'autres prélèvements, expectorations surtout, mais aussi urines, LCR...

La prévention de l'anguillulose généralisée mortelle après corticothérapie se base sur la notion de l'origine géographique du patient ou de ses séjours en pays d'endémie, en particulier en Afrique tropicale, aux Antilles, au Vietnam, et cela quelle que soit l'ancienneté de ce séjour puisque l'affection non traitée persiste toute la vie. Dans ce cas, si une corticothérapie générale ou locale doit être utilisée il convient :

- soit de faire un traitement systématique d'une éventuelle anguillulose, en se rappelant toutefois qu'une seule cure n'est pas toujours efficace.
- soit de faire une numération formule sanguine et une recherche de larves d'anguillules par la technique de BAERMAN, recherche que l'on répétera en cas d'hyperéosinophilie sanguine.

J.C. PETITHORY, Centre Hospitalier, Laboratoire - 95500 Gonesse.

Bibliographie

- (1) Gaillard H., Berdonneau R. Strongyloïdose expérimentale chez le chien. Effets de la cortisone. Résultats du test de Thorn à l'hormone corticotrope (A.C.T.H.). *Ann. Parasitol.*, 1953, **3**, 163-171.
- (2) Cruz T., Reboucas G., Rocha H. Fatal strongyloïdiosis in patients receiving corticosteroids. *N. Engl. J. Med.*, 1966, **275**, 1093-1096.
- (3) Petithory J.C., Derouin F. Aids and strongyloïdiosis in Africa. *Lancet*, 1987, **i**, 921.

Mycologie

1 - Echantillon BLONDY ou BROCA

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Trichosporon asahii* 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 hémoculture chez un homme de 36 ans, sportif, non immunodéprimé et hospitalisé en réanimation pour défaillances multiviscérales.



Photo 1 : *Trichosporon sp.*
Aspect macroscopique



Photo 2 : *Trichosporon sp.*
Aspect microscopique

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1217 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XIII.

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

tableau XIII - Bilan des réponses des 1217 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Trichosporon sp.</i>	81,0 soit 88,4% des 1115 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Cryptococcus sp.</i>	1,9
<i>Geotrichum candidum</i>	1,2
<i>Candida albicans</i>	1,2
<i>Geotrichum capitatum</i>	1,0
<i>Geotrichum sp.</i>	1,0
Candida divers	1,0

Autres levures	1,3
Dermatophytes / Filamenteux divers	2,0
Pas de réponse	1,1
Examen transmis	7,3

tableau XIV - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Trichosporon sp.* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Espèce	% genre :				% examen transmis + pas de réponse
			« <i>Trichosporon</i> »	« <i>Geotrichum</i> »	« <i>Candida</i> »	« <i>Cryptococcus</i> »	
2006	1217	<i>T. asahii</i>	81,0	3,2	2,2	1,9	8,4
1998	1271	<i>T. mucoïdes</i>	54,4	3,1	NC *	9,7	23,8
1991	1152	<i>T. asahii</i>	71,1	6,4	2,4	3,5	10,5
1986	623	<i>T. cutaneum</i>	42,8	4,0	14,1	15,2	16,1
1984	1030	<i>T. cutaneum</i>	61,5	8,9	15,2	1,2	10,2

NC * : non communiqué

Commentaires

Les levures du genre *Trichosporon* sont largement réparties dans la nature (sol, eau ou plantes) et souvent commensales de la peau et des muqueuses humaines.

Elles peuvent être à l'origine de lésions bénignes superficielles de la peau (intertrigo) ou des phanères (rares onyxis, mais surtout piedra blanche, nodules mous blanchâtres engainant les poils) mais aussi, de plus en plus souvent depuis la première description en 1970, de diffusions systémiques gravissimes chez les sujets immunodéprimés, en particulier neutropéniques.

Créé en 1890 avec l'espèce *Trichosporon ovoides*, le genre *Trichosporon* n'a cessé d'évoluer. Les techniques de biologie moléculaire permettent actuellement de le rattacher aux Basidiomycètes, et de différencier une vingtaine d'espèces, dont 7 seulement d'entre elles ont jusqu'à présent été isolées chez l'homme. Certaines préférences de localisation peuvent orienter le diagnostic : *T. mucoïdes* est retrouvé au niveau des pieds, *T. inkin* dans les plis inguinaux et les lésions de piedra blanche pubienne, *T. asahii* sur les ongles des pieds et des mains, et *T. ovoides* (qui, pendant un temps, était appelé *T. beigellii*) dans les piedra blanches de la barbe et des cheveux. *T. cutaneum*, *T. asteroides* et *T. filamenta* sont plus volontiers commensaux, mais ont pu être retrouvés dans des lésions cutanées ou des otomycoses.

En ce qui concerne l'identification du genre *Trichosporon* :

- L'aspect macroscopique des colonies sur Sabouraud est typique : de couleur crème, de type levuriforme, mais parfois sèches à rugueuses et cérébriformes (photo 1). Si toutes les espèces sont bleutées sur le milieu chromogène *Candida* ID®, elles peuvent être de différentes couleurs sur *Chromagar*® (bleu-vert, rose,...).

- Au microscope, différents éléments orientent vers l'identification : mélange de courts filaments septés irréguliers dont certains sont fragmentés en petits éléments ou arthrospores, et de blastospores (photo 2). Les arthrospores bourgeonnantes, caractéristiques du genre lorsqu'elles sont présentes ne sont pas visibles sur la photo 2.

- La recherche d'une uréase en milieu urée-indole à 37°C est positive et les trichosporons assimilent un grand nombre de sucres mais n'en fermentent aucun. Enfin, *T. asahii* présente un antigène capsulaire commun avec *Cryptococcus neoformans*, à l'origine de réactions croisées avec les tests d'agglutination latex.

Analyse des résultats du contrôle de qualité :

Les 81 % de bonnes réponses représentent le meilleur score obtenu pour les différents contrôles de qualité concernant *Trichosporon* (tableau XIV), ce qui semble indiquer une connaissance croissante de cette levure potentiellement pathogène.

La confusion avec *C. neoformans* peut provenir du fait qu'une recherche d'uréase (positive dans les deux cas) a été réalisée sans examen microscopique des cultures (uniquement des levures plus ou moins encapsulées dans un cas, culture mixte et plus riche dans l'autre).

A l'inverse, en cas de doutes après examen microscopique et l'observation d'arthrospores, la confusion avec des *Geotrichum* (certaines espèces ont longtemps « navigué » entre les deux genres) pouvait être évitée par la réalisation d'un test à l'urée, ou l'analyse attentive de l'auxanogramme.

Ces tests biochimiques pouvaient également permettre d'éliminer les autres levures et en particulier les *Candida*, même si quelques courts filaments pouvaient faire évoquer des tubes germinatifs.

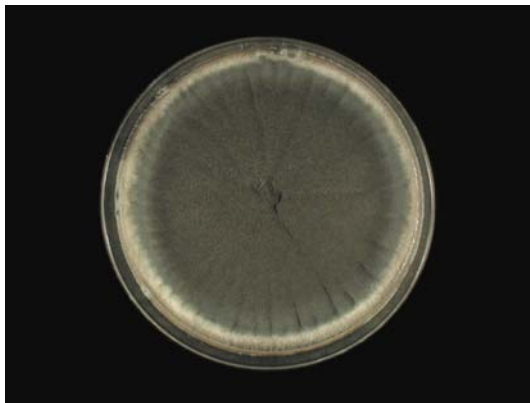
En revanche, ni la clinique, ni l'aspect macroscopique, pas plus que l'aspect microscopique ne permettait d'évoquer un champignon filamenteux, et encore moins un dermatophyte.

2 - Echantillon DJOUMA ou DUEZ

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche d'*Aspergillus fumigatus* 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 culture de liquide broncho-alvéolaire chez un homme de 48 ans en aplasie, hospitalisé pour lymphome.



Aspergillus fumigatus
Aspect macroscopique



Aspergillus fumigatus
Aspect microscopique

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1236 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XV.

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

tableau XV - Bilan des réponses des 1236 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Aspergillus fumigatus</i>	78,2 soit 82,4% des 1173 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>A. flavus</i>	6,6
<i>A. nidulans</i>	3,8
<i>A. niger</i>	2,7
<i>A. terreus</i>	1,4
<i>Aspergillus sp.</i> ou autre espèce	0,5
Dermatophytes / Filamenteux divers	1,1
Levures diverses	0,6
Pas de réponse	0,7
Examen transmis	4,4

tableau XVI - Bilan des cinq opérations de contrôle « *Aspergillus fumigatus* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de laboratoires ayant répondu :			Total genre <i>Aspergillus</i>
		« <i>A. fumigatus</i> »	« <i>A. niger</i> »	<i>Aspergillus</i> autres espèces ou « <i>Aspergillus sp.</i> »	
2006	1236	78,2	2,7	12,3	93,2
1996	1307	59,5	32,7	3,4	95,6
1992	1183	59,8	22,4	6,8	89,0
1983	1026	63,0	20,4	4,5	87,9
1980	665	89,5	2,3	4,7	96,5

Commentaires

Près de 80 % des résultats sont conformes à la réponse attendue : *Aspergillus fumigatus*. Pour mémoire, nous avons autour de 60% de bonnes réponses lors des envois précédents de 1996 , 1992 et 1983. Il reste des efforts à faire pour retrouver le bon chiffre de 1980 avec 89,5 % de réponses positives, l'erreur n'est pas de mise pour cette espèce potentiellement pathogène.

La confusion principale a été faite avec : *Aspergillus flavus* (6,6%). Rappelons les critères morphologiques de cet *Aspergillus* : les colonies sont jaunes verdâtres à l'endroit, pâles à l'envers, sauf si il y a des sclérotés en abondance. Microscopiquement, les têtes aspergillaires sont radiées parfois disposées en colonne. Le conidiophore est incolore, finement ou très rugueux (le piqueté n'est pas toujours facile à voir). Il y a deux rangées de stérigmates (1 rangée de métules porte les phialides). Les conidies sont globuleuses, habituellement échinulées (rugueuses), il existe parfois des sclérotés foncées ou noires.

Les autres confusions concernent également d'autres représentants du genre *Aspergillus*.

- *Aspergillus nidulans* (3,8 %)

Les colonies sont typiquement vert-cresson foncées, l'envers est incolore. Microscopiquement les têtes aspergillaires sont courtes, en colonne, le conidiophore est très court (40 à 100 microns). Il est habituellement coloré en brun assez intense. Il existe aussi deux rangées de stérigmates (une rangée de métules porte la rangée de phialides). Les conidies sont globuleuses et échinulées de 3 à 4 µm de diamètre. Au centre des cultures, on peut habituellement distinguer des cléistothèces de couleur

brun-rouge contenant des asques à l'intérieur desquels on peut mettre en évidence 8 ascospores de couleur rouge à surface lisse ou rugueuse et possédant deux crêtes équatoriales. Autour des cléistothèces, on distingue nettement, souvent en abondance, les cellules « en noisettes » appelées « Hull cells ».

- *Aspergillus niger* (2,7%)

Les colonies en début de croissance sont blanches puis jaunes et rapidement en 48 à 72h deviennent noirs charbonneuses, le revers restant incolore. Par transparence en regardant le tube, éventuellement avec une loupe, il est aisé de distinguer assez facilement les têtes aspergillaires portées par les conidiophores.

L'examen microscopique permet d'identifier et de confirmer l'examen macroscopique avec des têtes aspergillaires noires radiées portées par des conidiophores longs (1,5 mm à 3 mm) et à leur extrémité une vésicule cylindrique. habituellement deux rangées de stérigmates : une rangée de métules portant une rangée de phialides, les conidies sont brunes globuleuses habituellement échinulées. Cette espèce bien typée ne devrait plus être confondue avec *A. fumigatus*.

- *Aspergillus terreus* (1,4%)

La couleur est brun noisette ou cannelle, donc totalement différente de *A. fumigatus*. Les phialides sont portées par des métules. La tête aspergillaire est donc bisériée en colonne évasée (aspect en éventail).

Il convient maintenant de revenir sur le diagnostic initial. L'identification correcte du champignon aurait été plus facile si tous les laboratoires effectuaient, à la réception du tube, un repiquage sur 2 tubes (ou 2 boîtes) : sur milieu de Sabouraud classique ou mieux encore sur un milieu au malt, l'un à température ambiante 22-25°C, l'autre à l'étuve à 37°C. Environ 3 à 6 jours plus tard on examine les colonies. La croissance avec *A. fumigatus* est rapide surtout à 37°C (champignon thermophile). Les colonies blanches au départ sont poudreuses rapidement de couleur vert sombre et deviennent en quelques jours gris fumé. Elles ne sont jamais noires charbonneuses comme *A. niger* ou cannelle comme *A. terreus*.

L'examen microscopique entre lame et lamelle dans une goutte de bleu lactique d'un fragment de culture prélevé directement avec une oëse ou avec un morceau de scotch appliqué en surface (technique du drapeau) permet d'objectiver les têtes aspergillaires.

Le diagnostic du genre *Aspergillus* peut donc être posé, sans difficulté : sur des filaments végétatifs prennent naissance à partir d'une cellule podale, d'autres filaments dressés (à angle plus ou moins droit) non cloisonnés, appelés conidiophores. Ces derniers se terminent par une vésicule de forme habituellement arrondie, mais variable autour de laquelle sont disposées directement les phialides ou par l'intermédiaire de petits articles appelés métules. Enfin à l'extrémité des phialides naissent des conidies, disposées en chaînes non ramifiées. Elles sont souvent globuleuses, diversement pigmentées, lisses ou recouvertes d'aspérités (échinulations) plus ou moins marquées (cf. schéma ci-dessous).

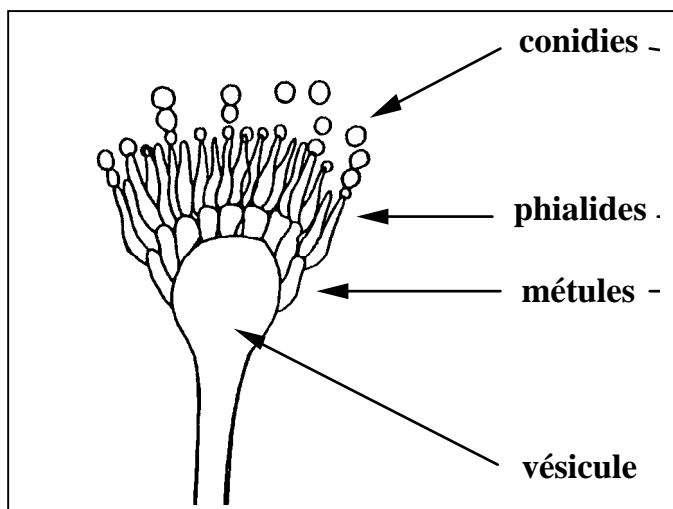


Schéma général de la production des spores ou conidies chez les *Aspergillus*

Le diagnostic de l'espèce : *Aspergillus fumigatus* repose sur les critères suivants :

Aspect macroscopique :

Recto : colonies blanches, puis bleu-vert virant ensuite au vert foncé à gris noirâtre.

Verso : incolore, jaune, vert ou brun rouge suivant les souches.

Croissance rapide à 37°C (2 à 3 jours). Température optimale 40-42°C, se développe très bien à 45°C et jusqu'à 57°C.

Aspect microscopique :

Conidiophore : court, 300 µm, lisse et incolore, avec évasement progressif au sommet

Vésicule : hémisphérique, 20 à 30 µm

Phialides : directement portées par la vésicule, dressées, densément groupées. Pas de rangée de métules

Conidies : globuleuses, vertes, échinulées, petites (2,5 à 3 µm)

Tête aspergillaire : unisériée, en colonne compacte, assez grande (jusqu'à 100 µm)

Pas de reproduction sexuée connue.

Pas de cellules « en noisette ».

En résumé :

Les *Aspergillus* sont des moisissures extrêmement répandues dans notre environnement. Parmi eux, *A. fumigatus* à cause de sa thermophilie et de nombreux autres facteurs de pathogénicité est un redoutable champignon opportuniste. Son rôle pathogène en pathologie humaine et animale n'est plus à démontrer. Il est donc impératif de le reconnaître, de l'identifier à partir d'un prélèvement.

Rappelons les critères morphologiques principaux :

- colonies blanches au départ devenant bleu-vert puis ensuite vert foncé à gris noirâtre.
- croissance rapide à 37°C, en 24 à 48 heures.
- tête aspergillaire unisériée (une seule rangée de phialides dressées sur la vésicule du conidiophore), compacte, en colonne.
- pas de reproduction sexuée connue, pas de cellules en noisette.

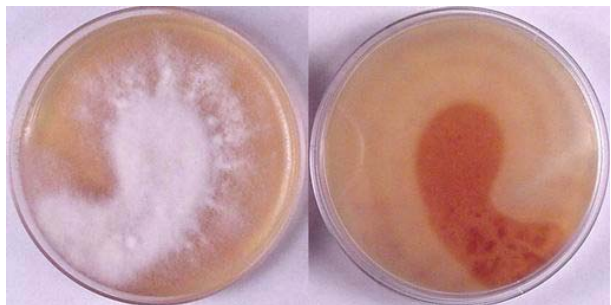
Pr D. Chabasse, CHU, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie - Angers

3 - Echantillon KRIMI ou KUDER

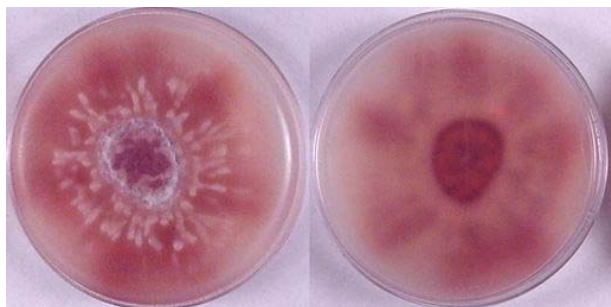
Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Fusarium oxysporum* 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 chirurgical d'une lésion de cornée chez une femme de 27 ans.



Fusarium oxysporum
Milieu de Sabouraud (recto verso)
Incubation à la lumière du jour



Fusarium oxysporum
Milieu PDA (recto verso)
Incubation à la lumière du jour

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1235 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XVII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'une souche de *Fusarium sp.* sont rapportés dans le tableau XVIII.

Tableau XVII - Bilan des réponses des 1235 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Fusarium sp.</i>	77,0 soit 85,6% des 1111 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Acremonium sp.</i>	4,3
<i>Trichosporon sp.</i>	1,3
<i>Trichophyton rubrum</i>	1,2
Dermatophytes divers	2,3
Filamenteux divers	1,7
Levures diverses	2,2
Pas de réponse	1,3
Examen transmis	8,7

Tableau XVIII - Bilan des six opérations de contrôle « *Fusarium sp.* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	« <i>Fusarium sp.</i> » (%)	% examen transmis + pas de réponse
2006	1235	77,0	10,0
1999	1333	64,7	9,8
1994	1405	64,9	9,2
1990	1110	54,4	16,9
1985	1018	46,0	9,8
1984	1079	19,2	9,8

Commentaires

Le genre *Fusarium* est un genre très hétérogène. Il regroupe l'expression de la phase de multiplication asexuée (stade anamorphe) de nombreux Ascomycètes (stade téléomorphe).

Stades téléomorphes : *Giberella sp.* ; *Nectria sp.*

Classification actuelle : Ascomycota, Euascomycètes, Hypocréales : Hypocreaceae

C'est un genre cosmopolite colonisant les parties aériennes et souterraines des plantes conduisant souvent à la destruction des feuilles, tiges et racines. Ce sont de très grands phytopathogènes. Bon nombre d'entre eux produisent aussi des mycotoxines. Plus de 100 espèces et 70 variétés sont actuellement connues et c'est *Fusarium oxysporum* qui connaît le plus grand nombre de variations phénotypiques.

Les espèces rattachées à ce genre sont responsables de très nombreuses pathologies infectieuses: endophtalmites (Pfulgfelder & al., 1988 ; Tu & al., 2007), kératites (Zapater & al., 1972; Zapater, 1986), septicémies (Kiehn & al., 1985; Segal & al., 1983; Melcher & al., 1993; Krulder & al., 1996 ; Vagace , & al., 2007 ; HO & al., 2007), endocardites (McGinnis & al., 1994; Camin & al., 1999), greffes (Upton & Marr, 2006), onychomycoses (Gianni & al., 1997; Pereiro & al., 1997; Romano & al., 1998), infections cutanées (Rippon & al., 1988)...

La plupart des champignons groupés dans ce genre se développent très bien sur les milieux usuels. Ils sont caractérisés par la production de conidies (spores externes) visqueuses, s'agglomérant dans une structure mycélium, le sporodochium. Ces conidies particulières sont allongées et courbées. Elles peuvent présenter plusieurs cellules alignées, ce sont les phragmospores (connues sous le nom de macroconidies). Ce sont ces conidies particulières qui ont conduit Link en 1809 à créer ce genre.

D'autres structures importantes pour l'identification des espèces sont également observées dans les cultures de ces champignons. Ce sont des conidies unicellulaires, les améropores (encore appelées microconidies) produites en chaînes ou en amas, les phialides, les polyphialides, les chlamyospores. L'identification d'un *Fusarium* repose sur la présence de plusieurs caractères morphologiques observés sur les milieux de culture.

Les milieux de culture :

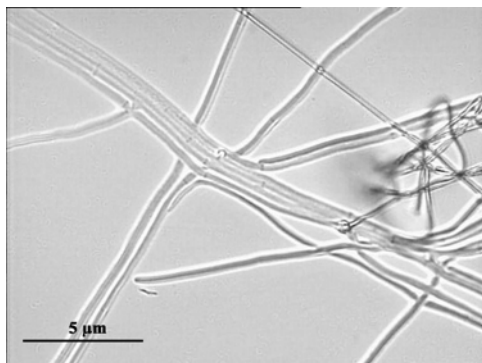
Le milieu de Sabouraud ne permet jamais une identification précise de l'espèce, il est beaucoup trop riche en glucose. On lui préférera le milieu à l'extrait de malt (MEA), le milieu PDA (amidon de pomme de terre, glucose, Agar), le milieu OA (amidon d'avoine, Agar), le milieu synthétique SNA (KH₂PO₄ = 1g ; KNO₃ = 1g ; MgSO₄, 7H₂O = 0.5g ; KCl = 0.5g ; glucose = 0.2g ; saccharose = 0.2g ; Agar = 20g ; eau qsp 1L)

Les conditions de culture :

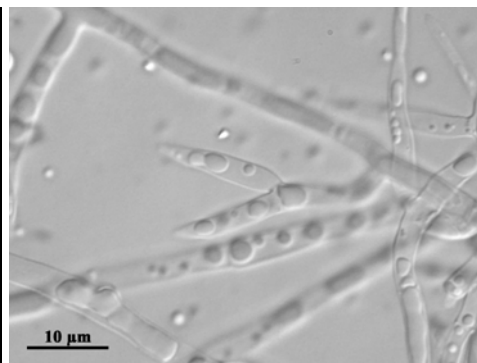
- température = 24-26°C
- temps d'incubation 7 à 10 jours
- exposition à la lumière du jour indispensable
- réalisation de cultures sur lame en chambre humide

Identification des Genres :

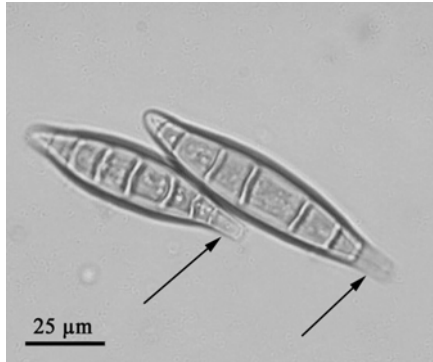
Thalle filamenteux à mycélium septé Champignon présentant toujours des conidies hyalines			
diamètre des filaments mycéliens homogène d'environ 1 µm : <i>Acremonium</i>	grande hétérogénéité des diamètres des filaments mycéliens de 2 à 5 µm :		
	phragmospores d'origine thalique : dermatophytes	phragmospores d'origine blastique phialidique :	
	phragmospores 2-4 cellules rectilignes à extrémités arrondies : <i>Cylindrocarpon</i>	phragmospores courbes, plus de 3 cellules avec une base émoussée caractéristique : <i>Fusarium</i>	



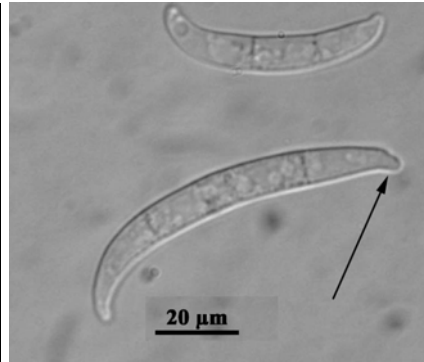
Filaments mycéliens d'*Acremonium* sp.



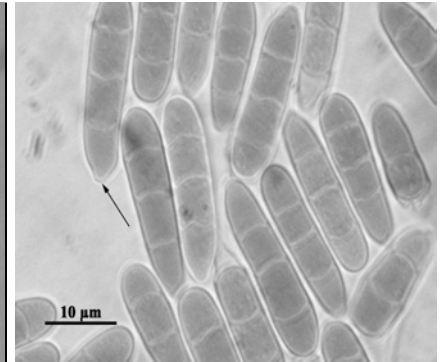
Filaments mycéliens de *Fusarium* sp.



Phragmospores thallicques
Microsporium sp.



Phragmospores phialidiques
Fusarium sp.



Phragmospores phialidiques
Cyliodrocarpon sp.

Clé élémentaire du genre *Fusarium* (d'après De Hoog & al., 2000, modifiée Gantier)

1. Colonie sur PDA de moins de 2cm en 7 à 10 jours

Y phragmospores supérieures à 55 µm ; absence de chlamydospores.....***Fusarium aqueductum***

Y phragmospores plus courtes (habituellement 25 µm); présence ou absence de chlamydospores

- phragmospores fortement courbées avec un apex pointu; chlamydospores présentes.....***Fusarium dimerum***

- phragmospores faiblement courbées, apex arrondi; chlamydospores absentes.....***Plectosporium tabacinum***
(= *Fusarium tabacinum*)

2. Colonie sur PDA atteignant plus de 2cm (4-8cm) en 7 à 10 jours

Nombreuses amérospores (microconidies), colonie de couleur brune à tanin; nombreuses cellules polyblastiques

Y nombreuses amérospores en chaîne

- amérospores exclusivement sur des monophialides

< amérospores en forme de navet ou de citron***Fusarium napiforme***

< amérospores d'une autre forme.....***Fusarium verticillioides***

- amérospores sur des mono et polyphialides

< chlamydospores absentes.....***Fusarium proliferatum***

< chlamydospores abondantes.....***Fusarium nygamai***

Y nombreuses amérospores en amas

- présence de cellules conidiogènes polyblastiques

< colonie rouge sur PDA; chlamydospores abondantes; blastoconidies abondantes.....***Fusarium chlamydosporum***

< colonie rose ou vineuse à violette ; chlamydospores absentes ; blastoconidies peu abondantes

a/ amérospores ovoïdes produites sur des conidiophores horizontaux au niveau du substrat.....***Fusarium sacchari***

b/ amérospores produites sur des conidiophores dressés

i. amérospores piriformes présentes***Fusarium anthophilum***

ii. amérospores piriformes absentes.....***Fusarium subglutinans***

- absence de cellules conidiogènes polyblastiques

< amérospores produites par des phialides courtes ; phragmospores oranges en masse, sans cellule du pied distincte ; colonie blanche à pourpre ou brune à orange quand les sporodochium sont produits

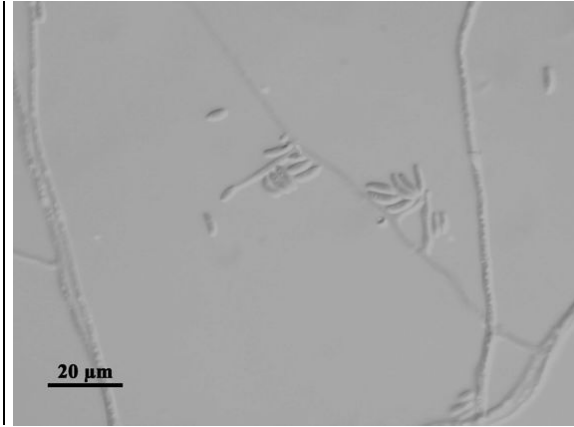
.....***Fusarium oxysporum***

< amérospores produites par des phialides longues ; phragmospores sans cellule du pied distincte ; colonie blanche, crème ou bleue à bleu vert quand les sporodochium sont produits.....***Fusarium solani***

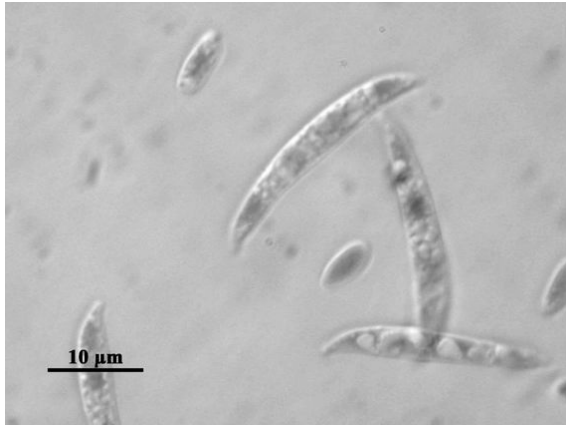
Fusarium oxysporum



Colonie quelque fois orange (sporodochium) contenant les phragmospores (culture sur SNA)



Amérospores produites par des phialides courtes
Production en amas, jamais en chaînettes.



Phragmospores sans cellule du pied distincte
âgées



Chlamydospores à paroi lisse dans les cultures

Pr J.C. GANTIER, Université Paris Sud - Parasitologie / Mycologie - Chatenay Malabry

Bibliographie

- CAMIN A.M, MICHELET C, LANGANAY T, DE PLACE C, CHEVRIER S, GUEHO E, GUIGUEN C. 1999, Endocarditis due to *Fusarium dimerum* four years after coronary artery bypass grafting. Clin. Infect. Dis., 28: 150
- DE HOOG G.S., GUARRO J., GENE J., FIGUERAS M.J., 2000, Hyphomycetes. Genus *Fusarium*. In Atlas of Clinical Fungi 2nd Ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 681-705
- GIANNI C, CERRI A, CROSTI C. 1997, Unusual clinical features of finger nail infection by *Fusarium oxysporum*. Mycoses, 40: 455-459
- HO DY, LEE J.D, ROSSO F, MONTOYA J.G. 2007, Treating disseminated fusariosis: amphotericin B, voriconazole or both? Mycoses, 50: 227-31.
- KAUFFMANN-LACROIX C., VILLERS A., GANTIER J.C., GUILLET G., LAMI M;C;, RODIER M.H. 2005, Onyxis et ulcérations cutanées à *Fusarium solani* chez un diabétique. J. Mycol. Méd., 15: 150-154
- KIEHN T.E, NELSON P.E, BERNARD E.M, EDWARDS FF, KOZINER B, ARMSTRONG D. 1985, Catheter-associated fungemia caused by *Fusarium chlamydosporum* in a patient with lymphocytic lymphoma. J. Clin. Microbiol., 21: 501-504
- KRULDER J.W, BRIMICOMBE R.W, WIJERMANS P.W, GAMS W. 1996, Systemic *Fusarium nygamai* infection in a patient with lymphoblastic non-Hodgkin's lymphoma. Mycoses, 39: 121-123
- MCGINNIS M.R., SEVERO L.C., KALIL R., FALLEIRO P.T. 1994, Endocarditis caused by *Fusarium pallidoroseum*. J. Mycol. Méd., 4: 45-47

MELCHER G.P, MCGOUGH D.A, FOTHERGILL A.W, NORRIS C, RINALDI M.G. 1993, Disseminated hyalohyphomycosis caused by a novel human pathogen, *Fusarium napiforme*. J. Clin. Microbiol., 31: 1461-1467

NELSON P.E., TOUSSOUN T.A., MARASAS W.F.O. 1983, *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park & London, 193pp

PEREIRO M., PEREIRO E., TORIBO J., PEREIRO-MIGUENS M. 1997, Superficial white toenail onychomycosis due to *Fusarium oxysporum*. A case reported and review of the literature. J. Mycol. Méd., 7: 219-222

PFLUGFELDER S.C, FLYNN H.W JR, ZWICKEY T.A, FORSTER R.K, TSILIGIANNI A, CULBERTSON W.W, MANDELBAUM S. 1988, Exogenous fungal endophthalmitis. Ophthalmology, 95: 19-30

RIPPON J.W, LARSON R.A, ROSENTHAL D.M, CLAYMAN J. 1988, Disseminated cutaneous and peritoneal hyalohyphomycosis caused by *Fusarium* species: three cases and review of the literature. Mycopathologia, 101: 105-111

ROMANO C, MIRACCO C, DIFONZO E.M. 1998, Skin and nail infections due to *Fusarium oxysporum* in Tuscany, Italy. Mycoses, 41: 433-437

SEGAL B.H, WALSH T.J, LIU JM, WILSON J.D, KWON-CHUNG K.J. 1998, Invasive infection with *Fusarium chlamydosporum* in a patient with a aplastic anemia. J. Clin. Microbiol., 36: 1772-1776

TU E.Y, MCCARTNEY D.L, BEATTY R.F, SPRINGER K.L, LEVY J, EDWARD D. 2007, Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592). Am J Ophthalmol. 143: 222-227

UPTON A, MARR KA., 2006, Emergence of opportunistic mould infections in the hematopoietic stem cell transplant patient. Curr Infect Dis Rep. 8: 434-41

VAGACE J.M, SANZ-RODRIGUEZ C, CASADO M.S, ALONSO N, GARCIA-DOMINGUEZ M, DE LA LLANA F.G, ZARALLO L, FAJARDO M, BAJO R. 2007, Resolution of disseminated fusariosis in a child with acute leukemia treated with combined antifungal therapy: a case report. BMC Infect Dis. 10;7:40

ZAPATER RC, D.E ARRECHEA A, GUEVARA V.H.,1972, [Keratomycosis due to *Fusarium dimerum*] Sabouraudia. 1972 Nov;10(3):274-5

ZAPATER, 1986, Opportunistic fungus infection – *Fusarium* infections – Keratomycosis by *Fusarium*. Jpn. J. Med. Mycol., 27: 68-69

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2390 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0601-0602, 0603-0604, 0605-0606, 0607-0608, 0609-0610, 0611-0612 ont été proposés.

La concentration en IgG spécifiques était nulle pour les échantillons identiques 0609-0610 et 0611-0612 et variable pour les quatre autres échantillons (à noter que les échantillons 0603-0604 et 0607-0608 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, 2240 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (70,6%), soit avec deux réactifs (29,4%).

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

Les conclusions (« négatif » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 0609-0610 et 0611-0612 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XX.

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 rassemblées dans les tableaux XXI à XXIII.

Enfin, la dispersion des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques pour chacun des trois échantillons « IgG positifs » de cette opération de contrôle ainsi que pour les quatre échantillons de titre proche des deux opérations précédentes (05PAR1 et 04PAR2) sont rapportées dans le tableau XXIV.

tableau XIX - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	2313 (79,8%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	971
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	740
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	179
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	90
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	61
BECKMAN COULTER "DXI Toxo IgG"	55
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	51
ROCHE « Elecsys/modular Toxo G »	38
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	32
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	28
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	25
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	13
DPC France "Immulite toxoplasmose G"	8
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	8
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmose IgG"	7
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	6
DIASORIN "ETI-Toxo-G6Plus"	1
<u>LATEX :</u>	395 (13,7%)
FUMOUCHE "Toxolater"	271
BIORAD "Pastorex Toxo"	85
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	23
SERVIBIO "Servitex Toxo"	16
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	78 (2,7%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	78
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	54 (1,9%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	52
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	2
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	43 (1,5%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	43
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u>	5 (0,2%)
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	5
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	10 (0,3%)
Total	2898 (100%)

tableau XX - Echantillons négatifs 0609-0610 et 0611-0612

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1554	277	47	35	25	2	6	1946
Positif	3							3
total	1557	277	47	35	25	2	6	1949

tableau XXI - Echantillon 0601-0602

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	Total
Négatif	3	1	1					5
Limite	1							1
Positif	756	119	27	16	11	1	3	933
total	760	120	28	16	11	1	3	939

Techniques non immunoenzymatiques : titres obtenus (UI/ml)

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	10	20	11
m Tr	18	19	20
CV Tr (%)	5	25	17
intervalle 2 écart-types	13-23	4-86	7-54

Technique immunoenzymatique : titres obtenus (UI/ml) en fonction du réactif utilisé

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	315	300	22,8	2,4	10,5
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	247	234	14,3	2,1	14,5
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	66	65	17,6	2,7	15,3
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	34	33	63,0	3,2	5,1
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	20	19	19,3	2,6	13,3
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	18	17	31,5	3,4	10,8
BECKMAN COULTER "DXI Toxo IgG"	17	16	17,5	2,2	12,3
ROCHE " Elecsys/modular Toxo G "	15	14	244,9	23,2	9,4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	10	10	26,4	3,7	13,9
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	8	8	32,0	11,0	34,5
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>764</i>	<i>-</i>	<i>-</i>	<i>-</i>	<i>-</i>

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

tableau XXII - Echantillon 0605-0606

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif		1						1
Limite	4	1	1					6
Positif	749	121	25	24	14	2	4	939
total	753	123	26	24	14	2	4	946

Techniques non immunoenzymatiques : titres obtenus (UI/ml)

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	24	21	14
m Tr	19	31	21
CV Tr (%)	17	26	24
intervalle 2 écart-types	7-50	5-179	5-91

Technique immunoenzymatique : titres obtenus (UI/ml) en fonction du réactif utilisé

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	317	304	24,2	2,6	10,6
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	248	237	11,4	1,8	15,7
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	61	59	21,2	2,9	13,4
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	34	33	50,8	1,8	3,6
BECKMAN COULTER "DXI Toxo IgG"	19	18	20,2	2,3	11,6
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	17	16	22,5	2,4	10,5
ROCHE " Elecsys/modular Toxo G "	16	16	219,6	17,2	7,9
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	14	12	26,7	3,4	12,6
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	10	10	31,5	10,2	32,2
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	9	9	27,1	3,6	13,1
<i>Tous réactifs confondus *</i>	758	-	-	-	-

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

tableau XXIII - Echantillon 0603-0604 et 0607-0608

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	IFI	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1							1
Limite	1							1
Positif	1507	240	50	39	30	3	8	1877
total	1509	240	50	39	30	3	8	1879

Techniques non immunoenzymatiques : titres obtenus (UI/ml)

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	37	41	16
m Tr	46	67	51
CV Tr (%)	14	16	11
intervalle 2 écart-types	16-135	17-266	21-122

Technique immunoenzymatique : titres obtenus (UI/ml) en fonction du réactif utilisé

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	632	609	64,3	8,4	13,0
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	495	474	29,1	3,6	12,4
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	128	119	45,1	6,9	15,3
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	66	64	136,7	5,2	3,8
BIOMERIEUX " Vidia Toxo IgG"	40	36	57,5	8,4	14,6
BECKMAN COULTER "DXI Toxo IgG"	35	32	49,9	6,2	12,4
DPC France "Immulite 2000 toxoplasme G"	32	29	74,0	9,9	13,4
ROCHE " Elecsys/modular Toxo G "	31	30	479,2	40,6	8,5
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	19	18	94,5	27,4	28,9
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	18	17	64,1	5,3	8,3
DIASORIN "Liaison Toxo IgG "	8	7	80,4	15,5	19,3
DPC France "Immulite toxoplasme G"	6	6	71,8	9,6	13,4
<i>Tous réactifs confondus *</i>	1519	-	-	-	-

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

tableau XXIV - Technique immunoenzymatique : titres et coefficients de variation

Comparaison avec quatre échantillons de titre proche des deux opérations précédentes (05PAR1 et 04PAR2)

Echantillons	Opération	Titres (UI/ml)		CV moyen (%)
		le plus faible	le plus élevé	
0415-0416	04PAR2	8,6	54,3	14,9
0605-0606	06PAR1	11,4	219,6	13,1
0601-0602	06PAR1	14,3	244,0	13,9
0501-0502-0503-0504	05PAR1	13,0	63,8	11,4
0419-0420	04PAR2	12,6	61,4	11,5
0507-0508	05PAR1	25,0	126,1	12,6
0603-0604-0607-0608	06PAR1	29,1	479,0	13,6

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 2228 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (89,1%), soit avec deux réactifs (10,9%).

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

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

tableau XXV – Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE :</u>	2290 (92,7%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	990
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	735
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	182
BAYER "ToxoM/ADVIA Centaur"	84
BECKMAN COULTER "DXI Toxo IgM"	55
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose M"	52
BIOMERIEUX " Vidia Toxo IgM "	51
ROCHE " Elecsys/modular Toxo M "	35
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	31
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	30
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	15
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	10
DPC France "Immulite toxoplasmose M"	7
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	6
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasmose IgM"	5
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	2
<u>LATEX :</u>	69 (2,8%)
FUMOUCHE "Toxolatem"	44
BIORAD "Pastorex Toxo"	19
SERVIBIO "Servitex Toxo"	3
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	3
<u>HEMAGGLUTINATION :</u>	48 (1,9%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE :</u>	27 (1,1%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>ISAGA :</u>	23 (0,9%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE :</u>	2 (0,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE :</u>	2 (0,1%)
INSTR.LABORATORY "Quantex Toxo"	
<u>REACTIF autre ou non précisé :</u>	10 (0,4%)
Total	2471 (100%)

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

Echantillons 0601-0602

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Immunoturbi.	NP	Total
Négatif	756	14	6	5	6	1	2	790
Positif	1	2			1			4
Total	757	16	6	5	7	1	2	794

Echantillons 0603-0604 et 0607-0608

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens	Immunoturbi.	NP	Total
Négatif	1511	27	9	17	15	1	1	4	1585
Positif	2	2			3	1			8
Total	1513	29	9	17	18	2	1	4	1592

Echantillons 0605-0606

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens.	NP	Total
Négatif	753	13	3	12	11	1	2	795
Positif					2	1		3
Total	753	13	3	12	13	2	2	798

Echantillons 0609-0610 et 0611-0612

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	NP	Total
Négatif	1525	36	28	18	81	12	1700
Limite					1		1
Total	1525	36	28	18	82	12	1701

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 XXVII).

Pour les échantillons « IgG et IgM négatifs », la conclusion attendue était : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « sérologie à renouveler tous les mois » (TOXA + TOXF). Les conclusions choisies par les biologistes, pour ce type d'échantillons, lors des trois opérations de contrôle 04PAR2, 05PAR1 et 06PAR1 sont illustrées figure 1.

Pour les trois échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue était : « Immunité ancienne probable » + « sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOXC + TOXH) ou « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOXC + TOXI). Les conclusions apportées par les biologistes sont détaillées dans le tableau XXVIII et comparées à celles de l'opération précédente 05PAR1 pour les échantillons de titres similaires.

Tableau XXVII - 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 anti-toxoplasme négatives »

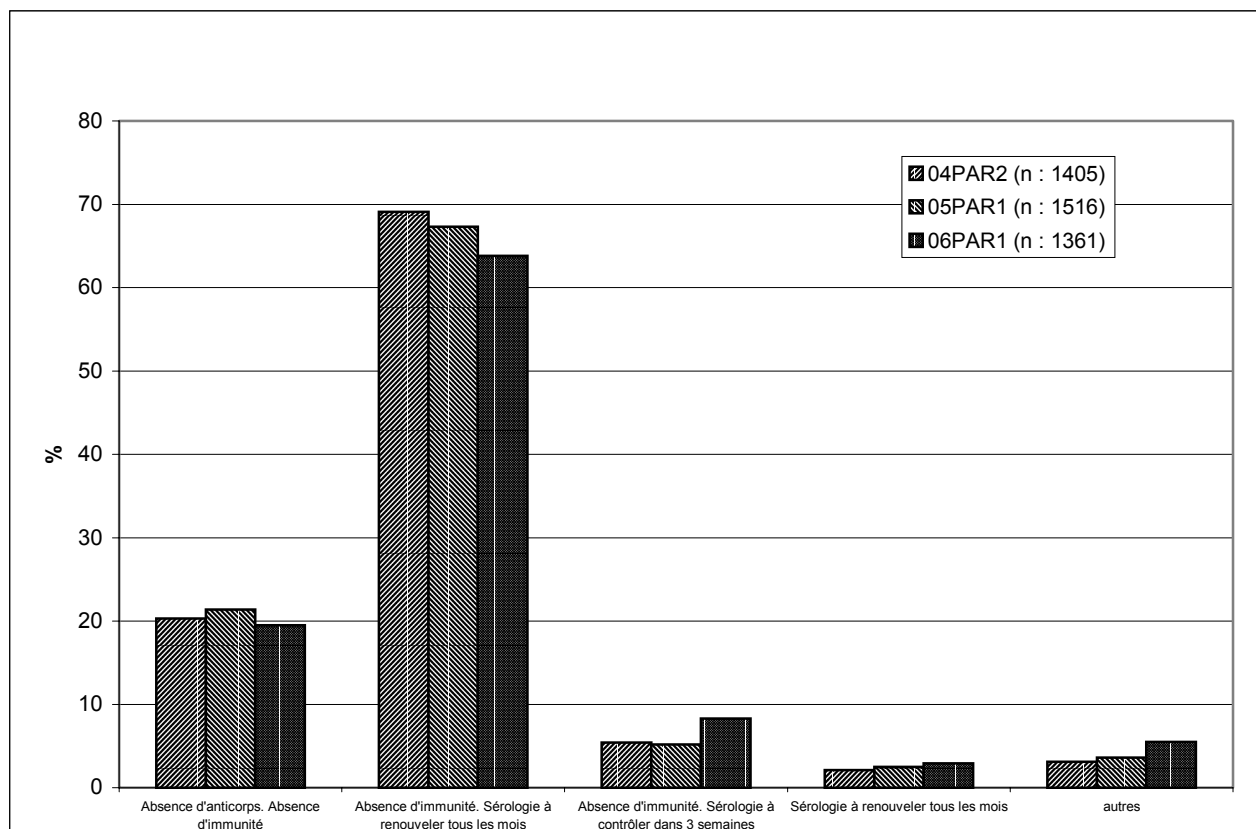


tableau XXVIII - Conclusions des biologistes pour les trois échantillons « IgG positif et IgM négatif »
Comparaison avec les échantillons de titre similaire de l'opération précédente

Echantillon	0501-0502 0503-0504	0601-0602	0605-0606	0507-0508	0603-0604 0607-0608
Opération	05PAR1	06PAR1	06PAR1	05PAR1	06PAR1
Titre moyen en IgG (UI/ml)	22,3	21,2	21,8	52,5	54,5
Effectif	1450	707	714	723	1455
Conclusion (%) :					
TOX C + (TOX H ou TOX I)	56	62,5	59,6	68,1	60,5
TOX C "immunité ancienne probable"	26,3	19,7	19,9	19,4	21,9
TOX H "sérologie à contrôler dans 1 semaine"	12,8	11,3	13,2	7,9	11,6
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	2,4	2,0	1,3	2,4	1,7
autres	2,5	4,5	6,0	2,2	4,3

Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, l'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0609-0610 et 0611-0612 montre trois (0,15%) faux positifs (tableau XX) : un faux positif sur chacun des deux échantillons pour un laboratoire utilisateur de l'Axsym et un faux positif sur un seul des deux échantillons pour un deuxième laboratoire utilisateur du Vidas.

Pour les trois échantillons positifs en IgG (tableau XXI à XXIII), on note 7 fausses conclusions « négatif » (0,19%) dont 3 correspondent à une interprétation erronée d'un titre franchement positif. Les 4 autres erreurs concernent trois laboratoires.

D'autre part, l'étude des titres obtenus pour les trois échantillons « IgG positifs » montre une dispersion importante des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques (Tableau XXIV). En dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI les IgG anti toxoplasme, certains réactifs attribuent systématiquement soit des titres faibles (ABBOTT), soit des titres élevés (ROCHE « Elecsys/modular»). C'est ainsi que le rapport « titre le plus élevé / titre le plus faible » est d'environ 18 quel que soit l'échantillon considéré.

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 *Toxoplasma gondii*.

Si l'on considère de façon globale les résultats des 4885 tests réalisés par l'ensemble des 2228 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 15 (0,3%) conclusions incorrectes « positif » (Tableau XXVI).

Sept laboratoires ont rendu les deux échantillons testés « positif ». Le détail des réactifs utilisés par ces laboratoires est le suivant : 3 toxolax FUMOUCHE, 2 hémagglutination FUMOUCHE, 1 Toxoscreen BIOMERIEUX, 1 Vidas compétition BIOMERIEUX. Un laboratoire a rendu un échantillon « positif » sur les deux testés avec le Vidas Toxo IgM.

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

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 95,1% (identique à celui de l'opération précédente 05PAR1).

Pour les échantillons « IgG et IgM négatifs », on note que sur les 1361 laboratoires concernés (figure 1) :

- 63,8% ont rendu la conclusion attendue : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois » (TOX A + TOX F),
- 22,4% ont rendu soit TOX A seule, soit TOX F seule,
- 8,3% ont rendu une interprétation très proche, également considérée comme acceptable : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX A + TOX H).

Soit 94,5% de conclusions correctes, score légèrement inférieur à celui obtenu lors des deux opérations précédentes (96,7%).

Pour les trois 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 61% des laboratoires. On n'observe pas de lien entre le titre moyen en IgG de l'échantillon et le pourcentage d'interprétations correctes (tableau XXVIII).

Enfin, le statut d'immunité ancienne (TOX C) hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif » est signalé par 79,5 à 82,4% des laboratoires selon l'échantillon considéré ; à comparer avec les 82,3 à 87,5% obtenus lors de l'opération précédente pour des échantillons de titres similaires.

Sérologie du paludisme

Définition de l'échantillon

Proposée pour la dixième fois depuis 1986 (année d'introduction de cette analyse dans le cadre du Contrôle national de qualité), la sérologie du paludisme a concerné 77 laboratoires ayant déclaré la réaliser sur leur site en 2006.

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

Echantillon N° 926 : 1 ml de plasma défibriné lyophilisé – moyennement positif ++ : titre moyen de 320 en immunofluorescence indirecte avec l'antigène *Plasmodium falciparum*.

Résultats des participants

Sur les 77 laboratoires inscrits pour cette analyse, 15 ont indiqué sur leur bordereau réponse qu'ils ne l'effectuaient plus et 56 ont rendu un résultat dans les délais.

Le bilan des techniques et réactifs employés par les 56 laboratoires participants montre que la majorité d'entre eux (49/56) utilisent une seule technique de dépistage (IFI : 43 ou ELISA : 6). Seuls 7 laboratoires utilisent deux réactifs : dans tous les cas, il s'agit d'une technique IFI, le plus souvent complétée par une technique ELISA (5 laboratoires) ou une électrosynérèse (1 laboratoire) ou une deuxième IFI (1 laboratoire).

La place occupée par chaque réactif dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie du paludisme est détaillée dans le tableau XXIX. On constate, par rapport à l'opération de contrôle précédente en 2003, l'apparition de la technique ELISA avec le réactif ELISA Malaria Antibody Test de DIAMED mis sur le marché fin 2004. Néanmoins, l'IFI, réalisée en majorité avec le réactif Falciparum Spot IF de BIOMERIEUX, suivi du Paludix de DIAGAST et des lames « maison » garde une place prépondérante.

Les conclusions rendues par les laboratoires participants pour l'échantillon 926 en fonction de la technique et du réactif employés sont rapportées dans le tableau XXX. Enfin, le détail des titres obtenus avec le réactif le plus utilisé « Falciparum spot IF » est indiqué dans le tableau XXXI.

tableau XXIX - Part (en %) des différentes techniques utilisées par les laboratoires en 2003 et en 2006

Techniques / Réactifs	2003 (effectif : 68)	2006 (effectif : 63)	évolution
Immunofluorescence indirecte :	98,5	80,9	ú
Falciparum Spot IF / BIOMERIEUX	57,3	60,3	
Paludix / DIAGAST	10,3	7,9	
"maison" : Ag P. falciparum	11,8	6,3	
"maison" : Ag P. cynomolgi	4,4	1,6	
réactif non précisé	14,7	4,8	
ELISA :	0	17,5	ú
Malaria Antibody Test / DIAMED		17,5	
Electrosynérèse :	1,5	1,6	ú

tableau XXX - Conclusions obtenues en fonction de la technique utilisée

Techniques / Réactifs	Positif	Limite	Négatif	Total
Immunofluorescence indirecte :	47	2	2	51
Falciparum Spot IF / BIOMERIEUX	36	2		38
Paludix / DIAGAST	5			5
"maison" : Ag P. falciparum	3			3
"maison" : Ag P. cynomolgi			1	1
réactif non précisé	2		1	3
ELISA :	11			11
Malaria Antibody Test / DIAMED	11			11
Electrosynérèse :			1	1
Total	58	2	3	63

tableau XXXI - Titres et conclusions obtenus avec le réactif Falciparum Spot IF/ BIOMERIEUX

Titre (inverse de dilution)	Conclusion		
	Positif	Limite	Total
40	2	1	3
80	7		7
100	1		1
160	10	1	11
200	3		3
320	8		8
400	1		1
640	2		2
1280	1		1
2560	1		1
total	36	2	38

Commentaires

Les résultats obtenus en ELISA avec le réactif DIAMED sont tous positifs. Les ratios, non demandés mais précisés par quelques laboratoires s'échelonnent de 2,55 à 4,23 (moyenne : 3,12).

L'unique électrosynérèse est négative. Toutefois, le laboratoire qui l'a réalisée effectuée en parallèle une IFI rendue positive. Cette technique d'immunoprécipitation « maison » dont l'antigène est obtenu à partir d'une culture in vitro de *Plasmodium falciparum* n'avait pas été mise en défaut lors des opérations de contrôle précédentes comportant des échantillons positifs.

Concernant l'IFI, les deux résultats faussement négatifs sont obtenus d'une part avec un réactif non précisé et d'autre part avec une lame préparée à partir d'antigènes de *Plasmodium cynomolgi*. Il faut noter que les 3 laboratoires qui avaient utilisé cet antigène lors de l'opération de contrôle précédente en 2003 avaient également rendu un résultat faussement négatif sur un échantillon positif.

Enfin, le titre modal et la moyenne géométrique obtenus avec réactif le plus utilisé (Falciparum spot IF BIOMERIEUX) sont respectivement égal à 1 :160 et 1 :190. Les deux laboratoires ayant conclu « limite » à partir d'un titre égal à 1 :40 ou 1 :160, auraient pu conclure « positif » sachant que le seuil de positivité du réactif est de 1 :40 (tableau XXXI).