

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 : 26 septembre 2007

Clôture : 28 octobre 2007

Edition des compte-rendus individuels : 10 janvier 2008

Paramètres contrôlés :

Frottis sanguin : *Plasmodium malariae*

Coprologie : *Taenia sp.*, selle non parasitée (pollens), *Giardia intestinalis*

Mycologie : *Trichophyton mentagrophytes var.interdigitale*, *Candida tropicalis*, *Acremonium sp.*

Sérologie de la toxoplasmose

Sérologie du paludisme

Nombre de laboratoires concernés* : 4041

Nombre de laboratoires participants** : 3955

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

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

Résumé de l'opération

A l'occasion de cette opération de contrôle, un frottis sanguin parasité par *Plasmodium malariae* a été adressé à l'ensemble des laboratoires. Le pourcentage de diagnostics exacts, proche de 80%, est identique à celui de l'envoi précédent en 2004.

La coprologie parasitaire comportait, pour la première fois, une selle non parasitée mais très chargée en pollen dit « diététique ». On compte près de 12% des participants ayant, à tort, identifié un parasite (œufs d'*Ascaris* le plus souvent). En ce qui concerne les deux autres échantillons de selles, on note que l'identification des kystes de *Giardia intestinalis* ne pose pas de problème : ce protozoaire de diagnostic aisé a été reconnu par 90,8% des participants. Quant aux œufs de *Taenia sp.*, ils ont également été identifiés par 9 laboratoires sur 10 ; ce qui est un score habituel. Il faut savoir que le diagnostic différentiel entre *T. saginata* et *T. solium* est essentiel mais nécessite d'étudier un anneau ou le scolex car les œufs des deux espèces sont morphologiquement identiques.

En ce qui concerne la mycologie, les résultats de l'identification de *Trichophyton mentagrophytes* sont décevants. En effet, on observe 51% de réponses correctes et une confusion avec l'espèce *T. rubrum* dans un quart des cas. Pourtant, une fois repiquée, les caractères macroscopiques et microscopiques de cette souche, certes un peu atypique, pouvaient conduire à une bonne identification. En revanche, près de 72% des participants ont reconnu *Candida tropicalis* proposé pour la 6^{ème} fois ; ce qui représente à ce jour la meilleure performance obtenue dans le cadre du CNQ. Le diagnostic exact de la souche d'*Acremonium* a été réalisé par un laboratoire sur cinq. Ce résultat est stable par rapport à l'envoi précédent en 1998. Toutefois, le taux de réponse erronée « *Trichosporon sp.* », augmente de 12% pour atteindre 31,8%.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 2377 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. L'étude des titres obtenus pour les deux échantillons « IgG positifs » confirme la dispersion importante et habituelle des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques ; ceci, en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI/ml les IgG anti-toxoplasme.

En ce qui concerne la sérologie du paludisme, l'échantillon positif proposé a été détecté comme tel par 51 des 52 laboratoires participants.

Frottis sanguin

1 - Echantillons MAKU, NGO, SAMBA, TOUBA, RIZAL ou VEGO

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'un frottis coloré au MGG.

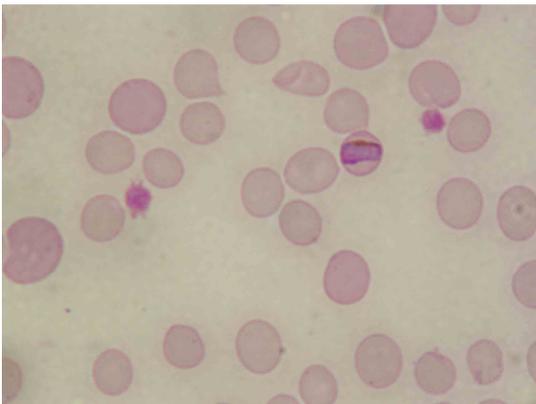
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr A. PAUGAM (Paris), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium malariae*

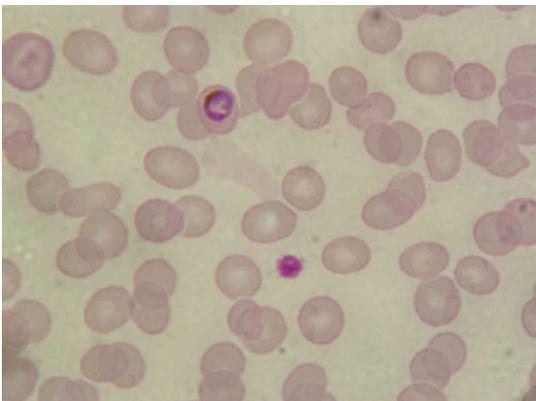
Stade : Trophozoïtes, schizontes et rares gamétocytes

Richesse du frottis : inférieur ou égal à 0,1% d'hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Recherche de Plasmodium chez une Congolaise fébrile.



Plasmodium malariae
Trophozoïte (bande équatoriale).
L'anisocytose est bien visible.
Obj. 100



Plasmodium malariae
Gamétocyte
Obj. 100

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 3738 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

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

Tableau I - Ensemble des réponses des 3738 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoites	<i>P. malariae</i>	82,6	78,7 soit 81,4% des 3616 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Schizontes jeunes		46,7	
Schizontes âgés		51,7	
Gamétocytes		52,7	
divers/non précisés		0,2	
Trophozoites	<i>P. ovale</i>	70,7	8,2
Schizontes jeunes		38,8	
Schizontes âgés		50,2	
Gamétocytes		38,4	
divers/non précisés		2,6	
Trophozoites	<i>P. vivax</i>	73,2	6,6
Schizontes jeunes		36,6	
Schizontes âgés		52,4	
Gamétocytes		38,6	
divers/non précisés		0,8	
Trophozoites	<i>P. falciparum</i>	65,3	3,2
Schizontes jeunes		22,3	
Schizontes âgés		42,1	
Gamétocytes		21,5	
divers/non précisés		4,1	
Trophozoites	<i>Plasmodium sp.</i>		0,3
Absence de parasite			0,5
Parasites divers			< 0,1
PAS DE REPONSE			0,4
EXAMEN TRANSMIS			2,8

Tableau II - Bilan des six opérations de contrôle « *Plasmodium malariae* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% d'hématies parasitées	% de bonnes réponses « <i>P. malariae</i> »	Plasmodium autres espèces (%)	Deuxième réponse (%)
2007	3738	< ou = 0,1	78,7	18,0	<i>P. ovale</i> (8,2)
2004	1246	0,1	80,1	11,9	<i>P. falciparum</i> (5,6)
2000	1305	0,1	55,4	42,5	<i>P. vivax</i> (27,2)
1994	1189	0,1	76,4	19,4	<i>P. vivax</i> (12,0)
1992	1239	0,1	65,6	20,9	<i>P. vivax</i> (13,1)
1984	952	0,2 - 1	81,9	15,0	<i>P. vivax</i> (8,6)

Commentaires

La patiente d'origine congolaise, enceinte de 8 mois, fébrile, arrive aux urgences de l'hôpital. Les premiers examens montrent une anémie importante et une thrombopénie à 65.000/ μ l. Elle est transfusée.

L'examen du frottis fait tout de suite apparaître une anisocytose, puis une hématie parasitée est découverte. La parasitémie est faible et estimée à 0,1 %.

Les hématies parasitées sont de taille normale ou légèrement inférieure à la normale. On remarque différents stades :

- Le stade trophozoïte jeune se présente comme un anneau. Le cytoplasme est bleu, le noyau rouge et la vacuole nutritive incolore, donnant l'impression d'un vide creusé dans le bleu cytoplasmique. Il n'y a pas ici de pigment alors que dans cette espèce le pigment, sous forme d'un grain noir, est souvent présent.

- Le stade trophozoïte âgé où le parasite grossit, tend à s'incurver, se replier sur lui-même, comme trop à l'étroit à l'intérieur de l'hématie. Du pigment est présent sous forme de gros grains noirs. On ne remarque ni taches de Maurer spécifiques de *Plasmodium falciparum*, ni granulations de Schüffner caractéristiques de *P. vivax* et *P. ovale*.

- Le stade schizonte jeune fait apparaître 2 ou 3 masses chromatiniennes de couleur rouge dans un cytoplasme bleu, la vacuole nutritive a disparu, le pigment est très présent.

- Le stade gamétocyte a été très rarement vu. Il se présente sous une forme globuleuse bleue avec un noyau unique rouge, tantôt arrondi, tantôt oblong, le pigment est présent.

Dans certains globules rouges parasités on pouvait voir quelques petites ponctuations peu nombreuses, fines qui pourraient être du pointillé de Ziemann. On les voit très rarement.

Il s'agissait d'un *Plasmodium malariae*, espèce présentant une parasitémie en général faible avec surabondance de pigment par rapport aux autres espèces.

La confusion avec *Plasmodium falciparum* ne représente dans ce test que 3,2 % des réponses.

F. ARDOIN, Centre Hospitalier, Laboratoire - Gonesse.

Coprologie parasitaire

1 - Echantillon MENES ou NAYA

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

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

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

Stade : embryophore

Richesse de la selle : 10 à 20 par lamelle.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites dans les selles chez un français ayant de petits troubles intestinaux.



Taenia sp.
Embryophore

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1242 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau III.

Pour rappel, les pourcentages des réponses obtenues lors des cinq envois précédents d'une selle contenant des œufs ou embryophores de *T. saginata* sont rapportés dans le tableau IV.

Tableau III - Ensemble des réponses des 1242 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Oeuf	<i>T. saginata</i>	66,0	51,2 soit 53,7% des 1181 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Embryophore		34,4	
Stades divers/non précisés		0,6	
Oeuf	<i>T. solium</i>	54,8	2,5
Embryophore		41,9	
Stades divers/non précisés		3,2	
Oeuf	<i>Taenia sp.</i>	60,5	36,3 soit 38,4% des 1181 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Embryophore		41,9	
Stades divers/non précisés		0,9	
Stades divers/non précisés	<i>Ascaris lumbricoides</i>		2,4
Helminthes divers			0,5
Protozoaires divers			1,2
PAS DE REPONSE			0,5
EXAMEN TRANSMIS			4,4

Tableau IV - Bilan des six opérations de contrôle «œufs ou embryophores de *Taenia saginata*».

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

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

Commentaires

L'homme se contamine par consommation de viande crue ou insuffisamment cuite contenant la larve cysticerque de *Taenia saginata* (provenant du bœuf) ou de *Taenia solium* (provenant du porc, sanglier ...).

Pendant la phase de maturation du ver qui dure trois mois, tout diagnostic direct est impossible. Le ver vit en permanence dans l'intestin grêle et, par conséquent, a un contact tissulaire très faible avec les cellules immunitaires. La sérologie, de sensibilité très faible, n'a pas d'intérêt en routine.

Lorsque l'anneau mûr se détache, les branches utérines peuvent s'écarter par contraction de l'anneau et expulser un certain nombre d'œufs qui se retrouvent ainsi dans les selles. De même, lorsque l'anneau force le sphincter, des embryophores se collent à la marge anale et peuvent être entraînés par les selles.

L'œuf est entouré d'une membrane externe incolore, lisse, transparente et mince dite membrane vitelline, mais celle-ci, très fragile, se rompt facilement et libère l'embryophore.

En pratique courante, rien ne permet de distinguer morphologiquement un embryophore de *Taenia saginata* d'un embryophore de *Taenia solium*. Tous deux par contre doivent contenir les six crochets de l'embryon (3 fois 2 paires de crochets), ce qui peut être aussi un bon élément de différenciation avec certains pollens. La coque brune et épaisse (5 à 7 microns) est composée de fines striations et l'embryophore par lui-même mesure de 30 à 50 microns.

Le seul diagnostic de certitude demeure l'étude des anneaux mûrs après injection d'encre de Chine dans les branches utérines. La numération de ces dernières (15 à 30 pour *Taenia saginata* et 7 à 10 pour *Taenia solium*) nous renseignera sur le *Taenia* incriminé.

Actuellement *Taenia solium* est éradiqué du territoire français, les cas rencontrés sont tous importés. *Taenia saginata* se rencontre encore en France mais est en voie de régression grâce, en particulier, à la généralisation du tout à l'égout et à la surveillance vétérinaire.

En l'absence de toute cause allergique, *Taenia saginata* est la première étiologie à évoquer devant une hyperéosinophilie sanguine chez un patient adulte n'ayant jamais quitté la métropole.

Lors de cette opération de contrôle, près de 90 % des participants sont parvenus à la dénomination « *Taenia* » (performance identique à celle de l'opération précédente en 2004) tandis que 2,4 % des participants ont répondu « œuf d'*Ascaris* » mais celui-ci mesure environ 60 microns et a deux coques distinctes visibles, l'externe étant le plus souvent mamelonnée et jamais striée.

P. JOUSSERAND, Centre Hospitalier, Laboratoire de Parasitologie - Gonesse.

2 - Echantillon SMAKI ou THOR

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle formolée non parasitée.

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

Nom du parasite : selle négative : absence de parasite et présence de nombreux pollens (ingestion de pollen dit « diététique »).

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



Trois grains de pollens différents

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1243 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau V.

Tableau V – Ensemble des réponses des 1243 laboratoires participants.

Diagnostic	%
Absence de parasite	63,6
Absence de parasite + pollens	9,2
Pollens +/- spores de champignons	6,2
Absence de parasite + spores de champignons	1,3
Spores de champignons	0,9
Ascaris lumbricoïdes	7,8
Protozoaires divers	2,7
Helminthes divers	1,1
PAS DE REPONSE	2,0
EXAMEN TRANSMIS	4,1

Commentaires

Près de 12% des participants ont signalé à tort la présence d'un parasite. Il s'agit le plus souvent d'œufs d'*Ascaris* (7,8% des cas). Ces œufs pouvant être très polymorphes, ce résultat n'est pas surprenant.

Le grain de pollen se forme dans l'anthere qui avec le filet constitue l'étamine, organe mâle de la fleur. La taille des grains de pollen varie de 3 µm (myosotis) à 200 µm chez des cucurbitacées comme la belle de nuit. Ces dimensions peuvent donc correspondre à celles de kyste ou d'œuf de parasites avec lesquels ils peuvent être confondus.

La paroi des grains de pollen, « le sporoderme », comporte deux couches (rarement trois) :

- l'exine, elle-même subdivisée en deux (exine 1 et exine 2).

- l'intine donne naissance au tube pollinique qui pénètre dans l'ovule. Le grain de pollen passe à travers le tube digestif et l'exine n'est pas modifiée (Nilsson et Praglowski).

Certains pollens ont pu être confondus avec les œufs d'*Ascaris*. Il n'est pas rare que le pollen dit diététique entraîne dans l'intestin des troubles digestifs (diarrhée) comme le pollen entraîne des troubles pulmonaires quand il est respiré, l'asthme est fréquent.

Les réactions d'un malade à la consommation de pollen sont liées aux gènes qu'il possède, comme cela l'est aussi pour l'asthme quand il est dû à la respiration du pollen.

Ces réactions ne sont pas rares et sont souvent très importantes. Nous en citerons quelques exemples :

- chez un homme de 32 ans une réaction anaphylactique due à l'ingestion de pollen entraîna en quelques minutes un prurit généralisé, un œdème de la face et de la toux : cela nécessita une administration d'urgence d'épinéphrine sous-cutanée et de méthyl prednisolone (Chivato). L'auteur écrit « Les patients consommant du pollen préparé par un herboriste doivent être informés sur les risques que ces éléments peuvent causer ». Il est à souligner que l'examen de selles, pratiqué rapidement après la consommation de pollen, permet de retrouver la cause mais aussi la conséquence par l'éosinophilie fécale présente, mise en évidence simplement par le trichrome de Gomori (Petithory).

- trois personnes après ingestion de pollen d'abeille, contenant du pollen de pissenlit ont fait une réaction allergique immédiate (Cohen).

- une autre personne, ignorante de sa sensibilisation fit une réaction anaphylactique après ingestion d'une petite quantité de pollen d'abeille (Greenberger).

- cinq malades ont fait une réaction anaphylactique ou systémique après consommation de pollen d'abeille (Mansfield).

Nous avons observé chez de tels malades, lorsque l'étude de selle pouvait être faite assez rapidement (quelques jours à quelques mois), la présence de polynucléaires éosinophiles en utilisant la coloration instantanée par le trichrome de Gomori (Petithory). La selle adressée aux laboratoires lors de cette opération de contrôle datait de plusieurs années. Les polynucléaires éosinophiles avaient disparu alors que les grains de pollen, qui peuvent se conserver des milliers d'années comme ceux retrouvés chez les momies, étaient toujours bien visibles et en parfait état.

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

Bibliographie

Chivato T., Juan F., Montoro A., Laguna R. Anaphylaxis induced by ingestion of a pollen compound. *J. Invest. Allergol. Immunol.*, 1996, **6**, 208-209.

Cohen S.H., Yunginger J.W., Rosenberg N., Fink J. Acute allergic reaction after composite pollen ingestion. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1979, **64**, 270-274.

Greenberger P.A., Flais M.J., Bee pollen-induced anaphylactic reaction in an unknowingly sensitized subject. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2001, **86**, 239-242.

Mansfield L.E., Goldstein G.B. Anaphylactic reaction after ingestion of local bee pollen. *Ann. Allergy*, 1981, **47**, 154-156.

Nilsson S., Praglowski J. Erdtman's Handbook of palynology. Ed. Erdtman's (Munksgaard Copenhagen), p. 580, 1992.

Petithory J.C., Ardoin F. L'éosinophilie fécale : Méthode de recherche et intérêt diagnostique dans les parasitoses et l'allergie intestinale. *Rev. Fr. Lab.*, 2006, **385**, 79-83.

Renault-Miskovsky J., Petzold M. Spores et pollen. Ed. Delachaux et Niestlé (Suisse), p. 360, 1992.

3 - Echantillon RAULT ou VIAL

Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une selle parasitée formolée.

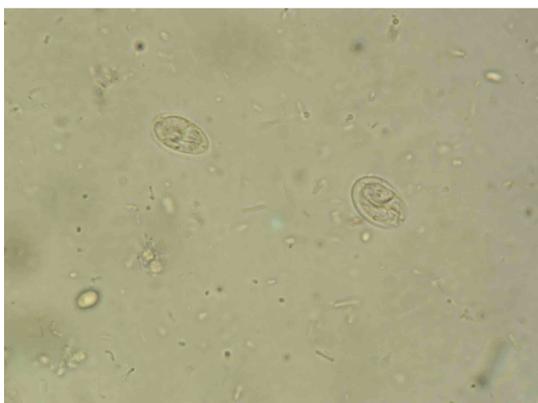
Le diagnostic des experts Dr J-C. PETITHORY (Gonesse), Dr G. GALEAZZI (Colombes), Dr R. DAHAN HIMY (Strasbourg) est le suivant :

Nom du parasite : *Giardia intestinalis*

Stade : Kystes

Richesse de la selle : 1 à 2 champs au X40 pour trouver un kyste.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites dans les selles chez un Français ayant de petits troubles intestinaux.



Giardia intestinalis
Deux kystes

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1253 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VI.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des cinq envois précédents d'une selle contenant uniquement des kystes de *Giardia intestinalis* sont rapportés dans le tableau VII.

Tableau VI - Ensemble des réponses des 1253 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Kyste	<i>Giardia intestinalis</i>	97,8	90,8 soit 95,4% des 1193 laboratoires ayant rendu un diagnostic.
Forme végétative		7,9	
Stades divers/non précisés		1,8	
Protozoaires divers			1,8
Helminthes divers			1,2
Absence de parasite			2,0
PAS DE REPONSE			0,2
EXAMEN TRANSMIS			4,6

Tableau VII - Bilan des six opérations de contrôle « Kystes de *Giardia intestinalis* ».

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

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

Commentaires

Dans leur forme typique, les kystes de *Giardia intestinalis* sont facilement identifiables de par leur forme ovoïde (10-15 µm / 8-9 µm), leur paroi fine et réfringente. Les kystes contiennent jusqu'à 2 futures formes végétatives qui ne remplissent pas toute la cavité, si bien qu'il existe un espace entre la paroi et le contenu. Ils contiennent 2 ou 4 noyaux selon le degré de maturation, bien visibles à l'état frais et sont reconnaissables grâce à leurs flagelles regroupés en forme de S dans le sens de la longueur au milieu du kyste et à leurs 2 corps parabasaux très réfringents en forme de virgule.

A noter que spontanément, mais plus souvent en cours de traitement, les kystes de *Giardia intestinalis* peuvent prendre des formes atypiques difficilement reconnaissables :

- kystes dégénérés, contenant une masse cytoplasmique, sans structure, rétractée n'occupant qu'une petite partie du kyste, voire kystes vides faiblement réfringents.
- kystes bleus, appelés ainsi parce qu'ils deviennent gris-bleu après coloration au lugol. Ce sont des kystes qui ont perdu leur coque, plus petits que les kystes normaux et dont les structures flagellaires ne sont pas nettement visibles. On peut parfois aussi observer au lugol des coques bleues, ayant perdu leur contenu, ouvertes en "tulipe".

Dans les cas difficiles où les kystes sont très abîmés, il faut observer avec insistance la préparation afin de trouver des formes plus typiques permettant de confirmer le diagnostic.

Les kystes typiques sont à différencier :

- des spores de morilles. Elles sont de forme ovoïde, à paroi incolore plus ou moins épaisse et pouvant avoir une taille un peu plus grande (20 µm / 12 µm). Mais leur contenu homogène sans structure (et donc sans flagelle) permet de ne pas les confondre. Il est aisé de les reconnaître lorsqu'elles sont de plus grande taille (jusqu'à 60 µm) ou contenues encore dans leur asque (sac allongé contenant 8 spores).

- des oocystes d'*Isospora belli*. Ils se présentent comme des éléments peu réfringents de 25-33 µm / 12-16 µm, en ovale allongé avec une extrémité plus rétrécie, contenant dans des selles fraîchement émises 1 à 2 sporoblastes (cellules arrondies granuleuses ne remplissant pas tout l'oocyste).
- des sporocystes d'*Isospora hominis*. Ils sont aussi ovoïdes, mesurant 11-15 µm / 7-10 µm. Leur paroi est plus épaisse très réfringente et sont identifiables grâce à leur corps résiduel en grains en position polaire et à leurs 4 sporozoïtes en "saucisse" à bords plus ou moins parallèles. Ils peuvent être observés encore accolés par deux par suite de l'éclatement de la paroi très fragile de l'oocyste. Les kystes bleus ne doivent pas être confondus avec des kystes de *Chilomastix mesnili* et d'*Endolimax nanus* de tailles comparables. La coloration au lugol permet de les différencier, en mettant en évidence :

- le flagelle du cystostome de *C. mesnili* en regard du noyau.

- les structures nucléaires typiques d'*E. nanus*.

Bien que plus fréquente dans les pays tropicaux (où les conditions climatiques et l'hygiène réduite sont favorables à la survie des kystes dans l'environnement), la giardiose est cosmopolite, pouvant être à l'origine d'épidémie familiale ou collective (crèche). Cette protozoose affecte 5 % des adultes et 10 à 15 % des enfants consultants.

Chez l'enfant, les troubles du transit et les douleurs abdominales avec éventuellement nausées et vomissements voire intolérance alimentaire sont la règle. Chez l'adulte, on peut observer une alternance de diarrhée et constipation et des troubles dyspeptiques à type de ballonnement postprandial. Mais dans un bon nombre de cas, on note un simple portage asymptomatique.

Le traitement de choix est le métronidazole (*Flagyl*®). L'albendazole (*Zentel*®) est également efficace. La prophylaxie repose sur les mesures élémentaires d'hygiène individuelle.

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

Mycologie

1 - Echantillon MORAK ou NIRET

Définition de l'échantillon

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

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : souche isolée d'une lésion inter-orteils de l'espace 3-4 chez un jeune homme de 20 ans.



Photo 1 : *Trichophyton interdigitale*
Aspect macroscopique



Photo 2 : *Trichophyton interdigitale*
Aspect microscopique

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1242 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau VIII.

Pour rappel, les pourcentages de bonnes réponses obtenus lors des sept envois précédents d'une souche de *Trichophyton mentagrophytes* sont rapportés dans le tableau IX.

Tableau VIII - Bilan des réponses des 1242 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> et variété interdigitale	51,0 soit 56,9% des 1113 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Trichophyton rubrum</i>	24,6
<i>Epidermophyton floccosum</i>	8,5
<i>Trichophyton</i> autres espèces	1,5
<i>Microsporum</i> divers	1,0
Filamenteux divers	2,2
Levures diverses	0,8
Pas de réponse	1,8
Examen transmis	8,6

Tableau XIV - Bilan des huit opérations de contrôle « *Trichophyton mentagrophytes* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	<i>T. mentagrophytes</i> ou var <i>interdigitale</i> (%)	Deuxième réponse (%)	Total dermatophytes (%)	% « examen transmis » ou absence de réponse
2007	1242	51,0	<i>T. rubrum</i> (24,6)	86,6	10,4
1999	1298	62,6	<i>T. rubrum</i> (8,1)	74,7	11,2
1996	1218	52,0	<i>T. rubrum</i> (26,5)	92,6	5,7
1993	1217	74,9	<i>M. gypseum</i> (4,6)	88,6	7,0
1990	1089	58,8	<i>T. rubrum</i> (14,6)	83,0	10,3
1986	589	76,4	<i>T. rubrum</i> (3,4)	85,0	10,8
1983	1026	68,3	<i>T. rubrum</i> (5,4)	77,9	14,3
1981	674	67,8	<i>T. rubrum</i> (8,5)	81,8	15,2

Commentaires

Il s'agissait d'une souche isolée d'une lésion inter-orteils chez un jeune homme de 20 ans.

Cette souche devait être identifiée comme *Trichophyton mentagrophytes* var *interdigitale*.

Un peu plus de la moitié des participants seulement ont donné la bonne réponse, un quart ont répondu *T. rubrum* et 8,5% *Epidermophyton floccosum*. Les autres réponses sont difficilement recevables.

Lors de sa réception, la souche était assez peu évocatrice de *T. interdigitale* car elle était blanche, un peu poudreuse et finement duveteuse au recto avec une coloration brunâtre au verso qui transparaissait sur le recto. La première étape à effectuer était de repiquer la souche du contrôle de qualité sur une gélose glucosée de Sabouraud (Sabouraud avec antibiotique et Sabouraud avec

antibiotique + actidione). On obtenait alors sur les deux milieux une belle colonie blanche franchement poudreuse au recto et colorée en brun foncé-acajou au verso.

Les caractères microscopiques des colonies pouvaient aussi poser quelques problèmes d'identification : les filaments étaient, peut-être, un peu trop larges et pas aussi souples qu'habituellement pour un *T. interdigitale* et les microconidies un peu trop allongées et pas toujours en « buisson » mais les ramifications des filaments étaient bien à angles droits.

En conclusion, l'origine du site de prélèvement associée aux caractères macroscopiques et microscopiques de cette souche, même un peu atypique, pouvaient conduire à une bonne identification.

L'identification des cultures en mycologie doit découler d'un processus clinico-biologique. N'oublions pas que le traitement proposé au patient par son médecin et l'enquête épidémiologique dépendront du résultat du laboratoire de biologie.

Dans le cas présent, il s'agissait d'une lésion inter-orteils chez un homme jeune. L'intertrigo inter-orteils est une infection extrêmement fréquente : un intertrigo fongique est responsable de lésions inter-orteils chez 30 à 60% des sportifs, des militaires.... !

La majorité des intertrigos inter-orteils est due pour la moitié des cas à un dermatophyte (« pied d'athlète ») et pour l'autre moitié des cas à des corynébactéries (érythrasma).

D'autres étiologies bactériennes (bacille pyocyanique) ou fongiques (candidoses, scytalidiose) sont possibles mais elles sont beaucoup plus rares. Nous ne les discuterons pas.

Cliniquement, l'aspect des lésions dans ces deux types d'intertrigos (dermatophytiques ou bactériens), permet souvent une orientation étiologique : dans le « pied d'athlète », dû par définition à des dermatophytes, les lésions sont généralement desquamatives, parfois fissurées au fond du pli ou vésiculo-bulleuses tandis que dans l'intertrigo bactérien à corynébactéries, les lésions sont plus blanches et d'aspect macéré.

1- Le prélèvement mycologique

Les lésions doivent être prélevées par grattage et non par simple écouvillonnage.

L'examen direct des squames, première étape capitale dans le diagnostic mycologique confirmera l'origine fongique en montrant des filaments mycéliens plutôt réguliers.

Dans le cas de l'érythrasma, une fluorescence « rose corail » peut être observée à l'examen avec une lumière ultra violette (lampe de Wood) et au microscope l'examen direct des squames montrent de petits bacilles filamenteux.

Une fois le diagnostic de dermatophytose posé après réalisation de l'examen direct, quelques dermatophytes à transmission inter-humaine sont capables d'être responsables d'un intertrigo inter-orteils : *Trichophyton rubrum* (> 80% des cas), *Trichophyton mentagrophytes var interdigitale* (10-15% des cas), *Epidermophyton floccosum* (quelques % des cas) et parfois *Trichophyton soudanense* chez des patients africains ou *Trichophyton violaceum* chez des patients maghrébins.

Le milieu de culture d'identification des dermatophytes demeure le milieu gélosé de Sabouraud avec antibiotique et avec antibiotique + actidione en tube.

Les squames sontensemencées en alternance sur la pente gélosée et placées contre la paroi en verre du tube.

Les colonies sont habituellement identifiables en 2 à 3 semaines

L'examen des colonies au microscope doit être faite par la technique du drapeau de cellophane.

2- Identification de *T. mentagrophytes*

T. mentagrophytes var interdigitale Priestley 1917.

C'est un dermatophyte avec une distribution cosmopolite, à transmission inter-humaine dans la variété interdigitale, qui est surtout responsable de lésions des pieds : plante des pieds, espaces inter-orteils et ongles des orteils. Les lésions plantaires et des espaces inter-orteils sont souvent vésiculeuses ou bulleuses et très prurigineuses.

Les colonies se développent assez rapidement sur milieux de Sabouraud et sont identifiables en 2 semaines.

T. mentagrophytes var interdigitale est une espèce qui s'est adaptée à l'homme et est sexuellement dégénérée par rapport aux souches sauvages telluriques et zoophiles de *T. mentagrophytes*.

Aspect macroscopique (photo 1) :

Pour les souches les plus typiques, au recto, les colonies sont constituées de fins grains de poudre donnant un aspect de disque plat de couleur blanche ou blanc cassé. Au verso, la coloration de la colonie peut aller du brun-jaune au brun foncé en passant par des rouge brun ou groseille. Une couleur dite « lie de vin », brun-rouge vineux avec une pointe de violet, est particulièrement évocatrice. La coloration s'étend sur l'ensemble de l'envers de la colonie contrairement aux colonies

de *Trichophyton rubrum* dont la coloration de l'envers des colonies se dispose généralement en cercles concentriques (aspect de cocarde) respectant la partie externe de la colonie. Parfois, les souches sont plus granuleuses que poudreuses avec quelques rayons flexueux en périphérie rappelant *T. mentagrophytes subsp radians*. Il s'agit sans doute de souches restées plus sauvages.

Certaines souches sont duveteuses en périphérie mais il persiste un aspect poudreux au centre de la colonie. Plus rarement les souches sont poudreuses cérébriformes et sèches.

Aspect microscopique :

A l'objectif x10, l'aspect est riche : sur un fond de filaments très souples avec toujours présence de spires et parfois de vrilles ou de « tire bouchon », on observe de nombreux paquets de petites microconidies rondes.

A un plus fort grossissement, il faut observer les ramifications à angle droit avec volontiers une disposition des ramifications en « croix de Lorraine ».

Les microconidies apparaissent globalement rondes mais quelques unes peuvent avoir un aspect en goutte. De beaux aspects d'« acladium » (microconidies rondes ou piriformes, disposées alternativement le long d'un filament) sont souvent présents. Enfin, certaines souches comportent des macroconidies allongées en cigare à plusieurs logettes, à paroi fine et lisse (photo 2).

T. interdigitale n'a pas d'exigence nutritive et un petit fragment de colonie sur ou dans un milieu indole urée donne une coloration rose fuschia (uréase positive).

En résumé, dans un contexte clinique compatible et avec présence de filaments mycéliens septés réguliers évocateurs de dermatophyte à l'examen direct des squames, les six points pour identifier *T. interdigitale* sont :

- aspect poudreux blanc des colonies
- coloration de l'ensemble du verso de la colonie ; coloration lie de vin très évocatrice
- examen microscopique des colonies riches en éléments fongiques
- filaments très souples avec au moins présence de spires
- filaments ramifiés à angle droit
- microconidies plutôt rondes, en paquets.

3- Diagnostic différentiel

Nous rappellerons brièvement les caractères culturels des deux autres dermatophytes (*T. rubrum* et *E. floccosum*) les plus souvent cités par les laboratoires participants ainsi que de *Trichophyton mentagrophytes* souche tellurique ou zoophile.

3-1 *Trichophyton rubrum* souches dites autochtones

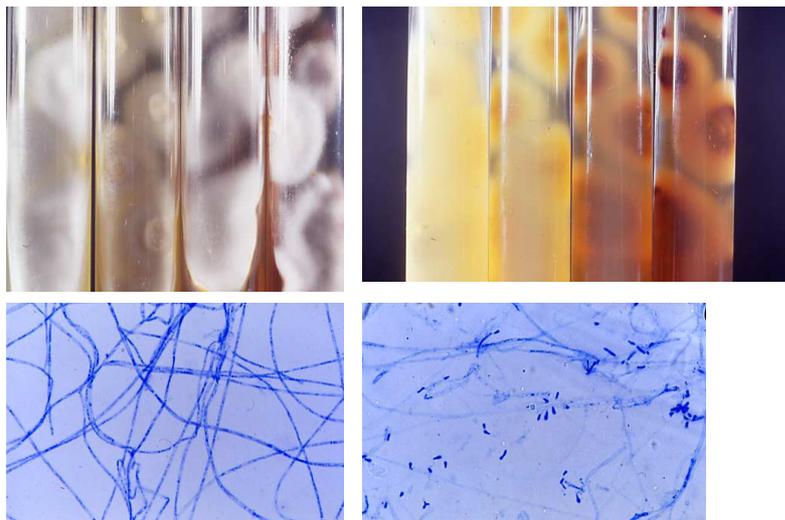


Photo 3 :
T. rubrum (souche autochtone)
Aspect macroscopique

Photo 4 :
T. rubrum (souche autochtone)
Aspect microscopique

Aspects macroscopiques (photo 3)

Recto : colonie en forme de coupole, toujours cotonneuse ou duveteuse, blanche.

Verso : coloration en jaune, rouge, brun à noir du revers de la colonie avec aspect de cocarde.

Certaines souches n'ont pas de coloration au verso ou n'ont pas le bel aspect de cocarde. Deux astuces peuvent alors être utiles : un petit fragment de colonie projeté sur le verre du tube de culture prend une belle coloration rouge « rubrum » ; la colonie monte sur le verre avec sa coloration.

Aspects microscopiques (photo 4) :

Le plus souvent : filaments réguliers stériles avec quelques excroissances triangulaires (non spécifique). Il faut toujours rechercher dans un coin de la préparation la présence des microconidies piriformes en acladium qui confirmeront le diagnostic de dermatophyte.

Parfois présence de macroconidies en « saucisse » à plusieurs logettes et à paroi lisse.

En cas de difficulté d'identification, nous recommandons le milieu de Borelli ou Lactrimel sur lequel une souche de *T. rubrum* donne un pigment rouge du revers de la colonie alors qu'un *T. interdigitale* n'en donne pas.

3-2 *Trichophyton rubrum* souches dites africaines ou asiatiques



Photo 5 : *T. rubrum* (souche africaine ou asiatique)
Aspect macroscopique

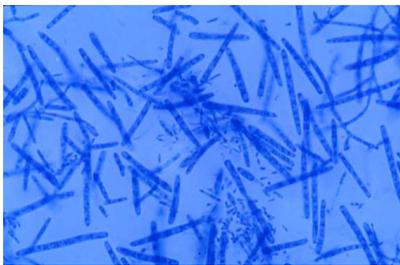


Photo 6 : *T. rubrum* (souche africaine ou asiatique)
Aspect microscopique

Aspects macroscopiques (photo 5)

Recto : colonie poudreuse, sèche , cratériforme, dans les rose-gris.

Verso : présence de cocardes pourpre-brun-noir.

Aspects microscopiques (photo 6)

Très nombreuses macroconidies en « saucisse » et microconidies piriformes.

3-3 *Epidermophyton floccosum*



Photo 7 :
E. floccosum
Aspect macroscopique

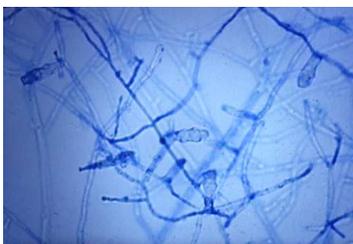


Photo 8 :
E. floccosum
Aspect microscopique

Aspects macroscopiques (photo 7)

Recto : apparition vers le 10^{ème} jour d'un disque fin poudreux ras gris verdâtre, doré. Puis le centre de la colonie se plisse et apparaissent des touffes de duvet blanc pléomorphique.

Verso : Chamois, orangé.

Aspects microscopiques (photo 8)

Présence de macroconidies à paroi peu épaisse, lisses, à 2-5 logettes très typiques, en massue, parfois regroupées en « régime de bananes » à l'extrémité des filaments. Puis apparition de chlamydospores et vésicules par transformation des macroconidies.

3-4 Rappel : *Trichophyton mentagrophytes* souche tellurique ou zoophile

L'origine clinique du prélèvement est différente : il s'agit soit de lésions inflammatoires de la peau glabre sur les zones découvertes, soit de kérion du cuir chevelu ou de sycosis de la barbe toujours très inflammatoires (parasitisme microïde, ectothrix).

Macroscopiquement, les souches sont plus granuleuses et plus extensives sur la gélose. Microscopiquement, l'examen des colonies est plus riche avec de nombreuses vrilles et des macroconidies.

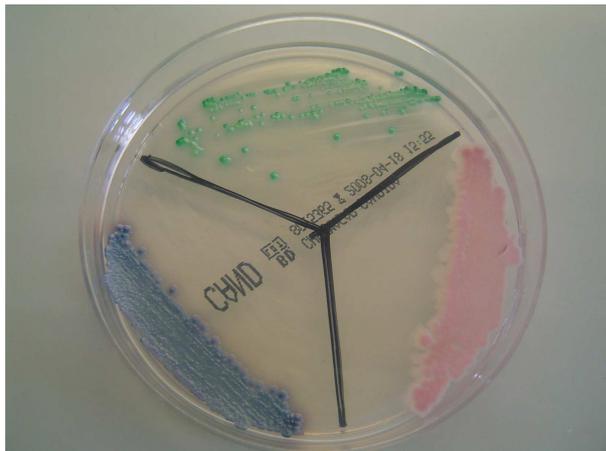
M. FEUILLHADE DE CHAUVIN, Hôpital Saint Louis, Unité de mycologie-dermatologie - Paris

2 - Echantillon SIRAC ou TURCAT

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche de *Candida tropicalis* 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 pratiquée sur un cathéter chez un homme de 50 ans, hospitalisé en réanimation chirurgicale et ayant subi une chirurgie vasculaire (prothèse aorto-fémorale).



Candida tropicalis (bleu)

Candida albicans (vert)

Candida krusei (rose)

Milieu chromogénique (CHROMAGAR)

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1242 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau X.

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

Tableau X - Bilan des réponses des 1242 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Candida tropicalis</i>	71,7 soit 78,8% des 1129 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Candida albicans</i>	8,5
<i>Candida lusitanae</i>	2,0
<i>Torulopsis famata</i>	1,8
<i>Candida parapsilosis</i>	1,1
<i>Candida</i> autres espèces	2,3
<i>Candida non albicans</i>	0,8
<i>Candida</i> sp.	0,5
Levures diverses autres que <i>Candida</i>	2,2
Pas de réponse	1,3
Examen transmis	7,8

Tableau XI - Bilan des six opérations de contrôle « *Candida tropicalis* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% de réponses « <i>C. tropicalis</i> »	% de réponses « <i>C. albicans</i> »	% « examen transmis » ou absence de réponse
2007	1242	71,7	8,5	9,1
2001	1297	63,0	20,4	5,5
1996	1217	68,8	12,9	3,6
1983	1082	59,3	18,9	7,5
1980	774	67,5	17,5	2,6
1979	1598	62,7	24,1	0,1

Commentaires

Candida tropicalis est une levure fréquemment isolée sur la peau, dans le tractus digestif et responsable, selon les études, de 4 à 24% des candidémies.

La souche adressée est isolée d'une hémoculture sur cathéter chez un homme de 50 ans hospitalisé en réanimation chirurgicale. L'identification de cette levure est essentielle puisque un traitement antifongique adapté devra être instauré. En effet, *Candida tropicalis* présente une sensibilité diminuée aux azolés, voire pour certaines souches à la 5 flucytosine. (Desnos-Olivier et coll., Emerging Infectious Diseases, avril 2008)

Avec près de 72% de diagnostics exacts, les résultats obtenus, concernant l'identification de *Candida tropicalis* sont les meilleurs depuis 1979 et sont dus en particulier à une nette diminution de la confusion avec l'espèce *C. albicans* (tableau XI).

Candida tropicalis pousse en 24 à 48h à 37°C sur milieu de Sabouraud sous la forme de colonies crémeuses, blanches à beiges. La culture est inhibée par l'actidione.

L'examen microscopique des colonies montre des blastospores en bouquets associées à un pseudo mycélium.

Sur milieu PCB ou RAT incubés à 27°C pendant 24 à 48h, on note l'absence de chlamydo-spores.

Le test de filamentation en sérum est classiquement négatif en 3 heures.

Candida tropicalis réduit le tétrazolium et prend une coloration rouge à violet, mais ce test n'est pas spécifique de cette espèce et ne peut être utilisé qu'à titre indicatif.

L'identification est réalisée sur les profils de fermentation et d'assimilation des sucres détaillés ci-dessous :

Sucre	Fermentation	Assimilation
Glucose	+	+
Galactose	+	+
Maltose	+	+
Saccharose	+	+
Lactose	-	-
Raffinose	-	-
Mélibiose	-	-
Tréhalose	+	+

L'erreur la plus fréquente est une confusion avec *C. albicans* (les deux espèces possèdent des codes communs dans certaines galeries d'identification). De plus, certaines souches de *C. tropicalis* filamment lors du test de blastèse : la lecture du test en 2h30 permettrait de pallier ce manque de spécificité.

Les milieux chromogéniques permettent l'isolement, l'identification présomptive de certaines levures et la mise en évidence d'éventuelles infections mixtes. Outre l'identification de *Candida albicans*, certains permettent d'identifier *C. tropicalis*. La lecture de milieux chromogéniques doit être effectuée dans les délais préconisés par les fabricants, mais elle peut être délicate : en particulier la distinction entre le bleu et le vert.

3 - Echantillon RAULT ou VIAL

Définition de l'échantillon

Culture d'une souche d'*Acremonium kiliense* 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 péritonéal sur péritonite chez une femme de 65 ans ayant un ulcère gastro-duodéal perforé.

Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 1254 laboratoires participants ainsi que leur pourcentage respectif sont détaillés dans le tableau XII.

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

Tableau XII - Bilan des réponses des 1254 laboratoires participants.

Diagnostic	%
<i>Acremonium sp.</i>	20,3 soit 24,2% des 1053 laboratoires ayant rendu un diagnostic
<i>Fusarium sp.</i>	16,4
Filamenteux autres	2,0
Dermatophytes divers	1,4
<i>Trichosporon sp.</i>	31,8
<i>Geotrichum</i> divers	3,2
<i>Rhodotorula sp.</i>	1,5
<i>Cryptococcus</i> divers	2,7
Levures autres	4,0
<i>Nocardia</i>	0,5
Pas de réponse	4,5
Examen transmis	11,6

Tableau XIII - Bilan des quatre opérations de contrôle « *Acremonium sp.* ».

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	% réponses			% « examen transmis » ou pas de réponse
		« <i>Acremonium sp.</i> »	« <i>Fusarium sp.</i> »	« <i>Trichosporon sp.</i> »	
2007	1254	20,3	16,4	31,8	16,1
1998	1297	21,3	4,3	19,3	18,6
1993	1138	15,3	13,2	23,5	25,1
1991	1084	19,3	22,3	8,4	28,7

Commentaires

GENRE ACREMONIUM :

Link, 1809, Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin, Magazin 3: 3-42. [Page(s): 15]

Ce genre (phase anamorphe) renferme plus de 90 espèces. Ce sont des champignons filamenteux communément isolés de débris végétaux et du sol. La phase téléomorphe (phase sexuée) est mal définie et se trouve associée à plusieurs genres d'Ascomycètes : *Emericellopsis sp.*, *Nectria sp.*, *Thielavia sp.* Longtemps classé parmi les Deuteromycota (phylum obsolète), il est classé aujourd'hui parmi les Ascomycota. La classification généralement acceptée est la suivante :

Règne: Fungi

Embranchement: Ascomycota

Sous Embranchement: Ascomycotina

Ordre: Hypocreales

Famille: Hypocreacea

Genre: *Acremonium*

L'identification se fait dans un premier temps sur milieu à l'extrait de malt (2%) en présence de lumière. La colonie se développe lentement (1 - 2cm à J7) avec souvent une allure faiblement duveteuse puis glabre et membraneuse. Le second temps de l'identification doit se faire sur culture sur lame avec comme support nutritif, également, une gélose à l'extrait de malt à 2%. Les phialides

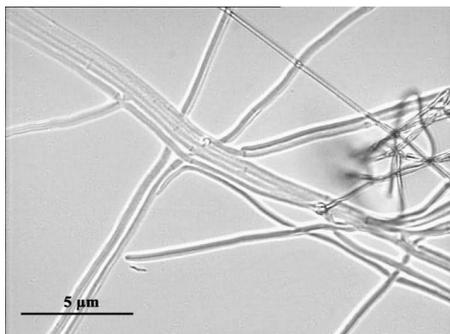
dressées sont dispersées le long des filaments mycéliens. Elles sont quelquefois ramifiées. La collerette est à peine visible. Les conidies sont de forme, de taille et d'arrangement variables. Ce sont des améro-didymospores hyalines restant le plus souvent groupées en amas au sommet de la phialide. (Gams, 1971; Fincher & al., 1991; Guarro & al., 1997)

La conidiogénèse est de type entéroblastique phialidique basipétale.

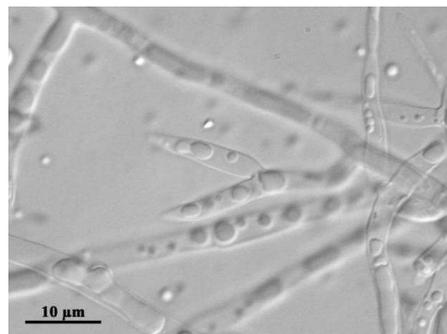
L'existence de plusieurs téléomorphes montre bien que ce genre est polyphylétique.

Plusieurs autres genres tels que *Fusarium*, *Phialemonium*, *Lecytophora* ou *Phaeoacremonium* peuvent être confondus avec *Acremonium* (tableau et photos ci-dessous).

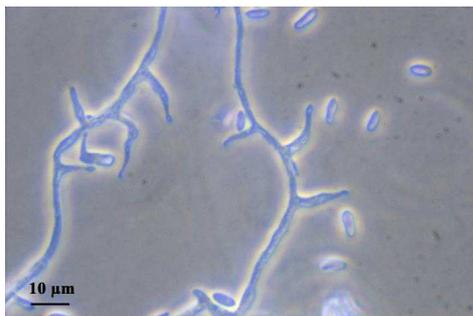
AUTRES CHAMPIGNONS RESSEMBLANT AU GENRE ACREMONIUM	DIFFERENCES
<i>Fusarium</i>	<ol style="list-style-type: none"> 1. croissance rapide (4-8 cm de diamètre à J7) 2. colonies cotonneuses avec présence de filaments mycéliens aériens 3. filaments mycéliens diamètre supérieur à 2µm
<i>Lecytophora</i>	Très proche d' <i>Acremonium</i> , les phialides ne sont pas séparées du mycélium par un septum
<i>Phialemonium</i>	Très proche d' <i>Acremonium</i> , les phialides ne possèdent pas de septum au niveau de l'insertion avec le mycélium ; phialides souvent ramifiées
<i>Phaeoacremonium</i>	Séparé des <i>Acremonium</i> en raison des filaments mycéliens mélanisés et surtout des phialides mélanisées possédant souvent un col bien visible



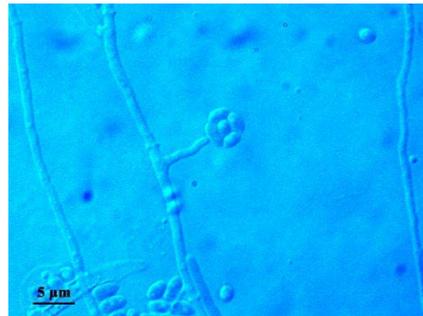
Acremonium sp.



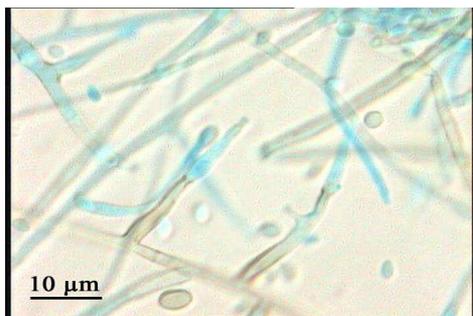
Fusarium sp.



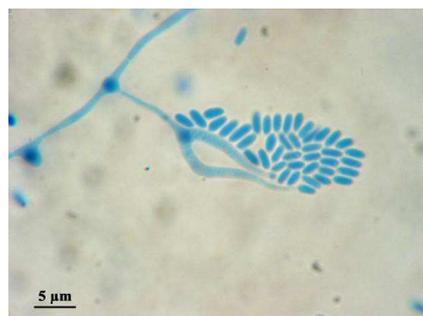
Acremonium sp.



Lecytophora sp.



Phaeoacremonium sp.



Phialemonium sp.

Clé élémentaire du genre *Acremonium*

1. **Amérospores avec une base tronquée**, droite, bien arrondie au sommet ; accumulation en très petite tête ; thermotolérant ***Acremonium alabamense***
2. **Amérospores sans base tronquée** ; si thermophile, conidies tronquées
 - a. Amérospores devenant grises
 - a-1 Amérosopres ovoïdes formée en longues chaines ***Acremonium atrogriseum***
 - a-2 Amérospores à base pointue, toujours en petites têtes ***Acremonium roseogriseum***
 - b. Amérospores restant hyalines
 - b-1 Amérospores courbes, réniformes ou courbes
 - Améro-phragmospores (1-3 cellules), habituellement en faucille, > 6µm de long ; thermotolérant ***Acremonium falciforme***
 - b-2 Amérospores d'une autre forme ; espèces non thermotolérantes
 - Conidiophores branchés, phialides avec un apex épais ***Acremonium recifei***
 - Conidiophore simple, phialides sans épaissement de l'apex ***Acremonium curvulum***
 - b-3 Amérospores droites, fusiformes, cylindriques, ou ovoïde à sphériques
 - Amérospores apparaissant en chaîne
 - Amérospore sub-sphérique à ovoïde ; < 4µm de long ***Acremonium blochii***
 - Amérospore fusiforme avec l'apex arrondi ; > 4µm de long ***Acremonium hyalinum***
 - Amérospores groupées dans une structure mucilagineuse
 - Amérospore le plus souvent cylindrique
 - Chlamydospores présentes dans les cultures âgées (3 semaines) ***Acremonium kiliense***
 - Chlamydospores absentes dans les cultures âgées (3 semaines) ***Acremonium strictum***
 - Amérospores ovoïdes
 - A parois lisses, colonies roses ***Acremonium potronoi***
 - Ovoïdes à subsphériques, verruqueuses, colonie blanchâtre à ocre ***Acremonium spinosum***

On note seulement 20,3% de diagnostics exacts pour cette espèce fongique (score identique à celui de l'envoi précédent en 1998). Le fait que près d'un laboratoire sur trois ait rendu « *Trichosporon* » qui est une levure à la place d' « *Acremonium* » est préoccupant (+12% par rapport à l'envoi précédent). Il est vrai que la souche d'*Acremonium* est identifiée « *Trichosporon* » sur la galerie d'identification de levures API32C BioMérieux mais la souche à identifier n'étant pas une levure, les laboratoires ne doivent pas utiliser une telle galerie d'identification.

Un examen direct en périphérie de la colonie montrait des filaments mycéliens très fins avec de très fines phialides perpendiculaires aux filaments. Au centre de la colonie, d'innombrables conidies pouvaient être observées. Ces dernières ont très certainement été prises pour des éléments lévuriformes. Toutefois les conidies sont plus petites (1-2 µm) que les levures de *Trichosporon* (4 µm). Un autre élément pouvait attirer l'attention, c'est la couleur beige-rosé et la structure membraneuse de la colonie. En effet, à la lumière, les colonies d'*Acremonium* rosissent légèrement alors que les colonies de *Trichosporon* gardent leur couleur blanc sale - beige.

A l'heure actuelle les infections profondes dues aux champignons appartenant au genre *Acremonium* ne sont plus exceptionnelles et l'attention du biologiste doit être retenue devant des colonies se développant lentement et se colorant après exposition à la lumière pendant quelques jours. La plupart des cas recensés sont d'origine traumatique, lésions oculaires (kératites et endophtalmies), cutanées superficielles ou profondes (mycétomes). Les *Acremonium* sont également rencontrés dans

des cas d'onychomycoses. Enfin, régulièrement, des cas sont signalés avec des atteintes plus profondes : sinus, septicémies, endocardites, méningites, péritonites, ostéomyélites. (Fincher & al., 1991; Guarro & al., 1997). Ils sont reconnus aujourd'hui pour avoir une importante responsabilité dans les infections fongiques opportunistes chez les patients immunodéprimés ou lors de greffes (Morrison & al., 1993) ou des transplantations (Penk, A. & L. Pittrow. 1999).

Pour avoir une idée de ce que représente aujourd'hui le genre *Acremonium* en pathologie humaine, une bibliographie non exhaustive est donnée ci-dessous.

Bibliographie

- ALFONSO JF, BAAMONDE MB, SANTOS MJ, ASTUDILLO A, FERNÁNDEZ-VEGA L. *Acremonium* fungal infection in 4 patients after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* 2004 Jan;30(1):262-7.
- ANADOLU R, HILMIOĞLU S, OSKAY T, BOYVAT A, PEKSARI Y, GÜRGEY E. Indolent *Acremonium strictum* infection in an immunocompetent patient. *Int J Dermatol.* 2001 Jul;40(7):451-3.
- BEAUDREUIL S, BUCHLER M, AL NAJJAR A, BASTIDES F, FRANCOIS M, DUONG TH, NIVET H, RICHARD-LENOBLE D, LEBRANCHU Y. Acute septic arthritis after kidney transplantation due to *Acremonium*. *Nephrol Dial Transplant.* 2003 Apr;18(4):850-1.
- BIBASHI E, KOKOLINA E, SIGLER L, SOFIANOU D, TSAKIRIS D, VISVARDIS G, PAPADIMITRIOU M, MEMMOS D. Three cases of uncommon fungal peritonitis in patients undergoing peritoneal dialysis. *Perit Dial Int.* 2002 Jul-Aug;22(4):523-5.
- CHANG YH, HUANG LM, HSUEH PR, HSIAO CH, PENG SF, YANG RS, LIN KH. *Acremonium pyomyositis* in a pediatric patient with acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2005 May;44(5):521-4.
- CHO BJ, LEE YB. Infectious keratitis manifesting as a white plaque on the cornea. *Arch Ophthalmol.* 2002 Aug;120(8):1091-3.
- CORDOBA A, FRAENZA L. [Mycetoma from *Acremonium* sp.] *Ann Dermatol Venereol.* 2005 Feb;132(2):194.
- CORNEJO-JUÁREZ P, VELÁSQUEZ-ACOSTA C, MARTÍNEZ-ROQUE V, RANGEL-CORDERO A, VOLKOW-FERNÁNDEZ P. [Asymptomatic fungemia caused by *Acremonium* sp associated with colonization of a central venous catheter] *Gac Med Mex.* 2007 May-Jun;143(3):193-6.
- CRETI A, ESPOSITO V, BOCCHETTI M, BALDI G, DE ROSA P, PARRELLA R, CHIRIANNI A. Voriconazole curative treatment for *Acremonium* species keratitis developed in a patient with concomitant *Staphylococcus aureus* corneal infection: a case report. *In Vivo.* 2006 Jan-Feb;20(1):169-71.
- ESCOBAR ML, CARMONA-FONSECA J. [Onychomycosis by common non-dermatophyte moulds] *Rev Iberoam Micol.* 2003 Mar;20(1):6-10.
- FINCHER RM, FISHER JF, LOVELL RD, NEWMAN CL, ESPINEL-INGROFF A, SHADOMY HJ. Infection due to the fungus *Acremonium* (*Cephalosporium*). *Medicine (Baltimore).* 1991 Nov;70(6):398-409.
- FLEMING RV, WALSH TJ, ANAESSIE EJ. Emerging and less common fungal pathogens. *Infect Dis Clin North Am.* 2002 Dec;16(4):915-33, vi-vii.
- GAMS W, 1971. *Cephalosporium-artige schimmelpilze (hyphomycetes)* Gustav Fisher Stuttgart, 262pages
- GEYER AS, FOX LP, HUSAIN S, DELLA-LATTA P, GROSSMAN ME. *Acremonium* mycetoma in a heart transplant recipient. *J Am Acad Dermatol.* 2006 Dec;55(6):1095-100.
- GUPTA M, SHARMA NL, KANGA AK, MAHAJAN VK, TEGTA GR. Onychomycosis: Clinico-mycologic study of 130 patients from Himachal Pradesh, India. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2007 Nov-Dec;73(6):389-92.
- GUPTA AK, AND R. C. SUMMERBELL. 1999. Combined distal and lateral subungual and white superficial onychomycosis in the toenails. *J Am Acad Dermatol.* 41:938-44
- GUARRO J, GAMS W, PUJOL I, GENE J. 1997. *Acremonium* species new emerging fungal opportunists. In vitro antifungal susceptibility and review. *Clin. Infect. Dis.*, 25, 1222-1229
- HERBRECHT R, LETSCHER-BRU V, FOHRER C, CAMPOS F, NATARAJAN-AME S, ZAMFIR A, WALLER J. *Acremonium strictum* pulmonary infection in a leukemic patient successfully treated with posaconazole after failure of amphotericin B. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002 Nov;21(11):814-7.
- HILMIOĞLU-POLAT S, METIN DY, INCI R, DERELI T, KILINÇ I, TÜMBAY E. Non-dermatophytic molds as agents of onychomycosis in Izmir, Turkey - a prospective study. *Mycopathologia.* 2005 Sep;160(2):125-8.
- KENDIRLI T, CIFTÇI E, EKIM M, GALIP N, DÜZENLİ F, OZÇAKAR ZB, TAPISIZ A, UÇAR T, TUTAR E, GÜRİZ H, ATALAY S. *Acremonium* spp. peritonitis in an infant. *Mycoses.* 2008 Apr 16.
- KEYNAN Y, SPRECHER H, WEBER G. *Acremonium* vertebral osteomyelitis: molecular diagnosis and response to voriconazole. *Clin Infect Dis.* 2007 Jul 1;45(1):e5-6. Epub 2007 May 23.
- KOÇ AN, MUTLU SARIGÜZEL F, ARTIŞ T. Pleuritis caused by *Acremonium strictum* in a patient with colon adenocarcinoma. *Mycoses.* 2008 Apr 16.
- MAIDANA E, GONZÁLEZ R, MELO JÚNIOR LA, SOUZA LB. [Infectious keratitis in children: an epidemiological and microbiological study in a university hospital in Asunción-Paraguay.] *Arq Bras Oftalmol.* 2005 Nov-Dec;68(6):828-32.

- MANZANO-GAYOSSO P, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ F, MÉNDEZ-TOVAR LJ, GONZÁLEZ-MONROY J, LÓPEZ-MARTÍNEZ R. Fungal peritonitis in 15 patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Mycoses*. 2003;46(9-10):425-9.
- MANZANO-GAYOSSO P, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ F, MÉNDEZ-TOVAR LJ, PALACIOS-MORALES Y, CÓRDOVA-MARTÍNEZ E, BAZÁN-MORA E, LÓPEZ-MARTÍNEZ R. Onychomycosis Incidence in Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *Mycopathologia*. 2008 Mar 29.
- MATTEI D, MORDINI N, LO NIGRO C, GALLAMINI A, OSEDA M, PUGNO F, VISCOLI C. Successful treatment of *Acremonium* fungemia with voriconazole. *Mycoses*. 2003 Dec;46(11-12):511-4.
- MIYAKIS S, VELEGRAKI A, DELIKOU S, PARCHARIDOU A, PAPADAKIS V, KITRA V, PAPADATOS I, POLYCHRONOPOULOU S. Invasive *Acremonium strictum* infection in a bone marrow transplant recipient. *Pediatr Infect Dis J*. 2006 Mar;25(3):273-5.
- MORRISON, V. A., R. J. HAAKE, AND D. J. WEISDORF. 1993. The spectrum of non-Candida fungal infections following bone marrow transplantation. *Medicine (Baltimore)*. 72:78-89.
- NDOYE ROTH PA, BA EA, WANE AM, DE MEIDEROS M, DIENG M, KA A, SOW MN, NDIAYE MR, WADE A. [Fungal keratitis in an intertropical area: diagnosis and treatment problems. Advantage of local use of polyvidone iodine] *J Fr Ophthalmol*. 2006 Oct;29(8):e19.
- NEDRET KOÇ A, ERDEM F, PATIROĞLU T. Case Report. *Acremonium falciforme* fungemia in a patient with acute leukaemia. *Mycoses*. 2002 Jun;45(5-6):202-3.
- NEGRONI R, LÓPEZ DANERI G, ARECHAVALA A, BIANCHI MH, ROBLES AM. [Clinical and microbiological study of mycetomas at the Muñiz hospital of Buenos Aires between 1989 and 2004] *Rev Argent Microbiol*. 2006 Jan-Mar;38(1):13-8.
- PASTORINO AC, MENEZES UP, MARQUES HH, VALLADA MG, CAPPELLOZI VL, CARNIDE EM, JACOB CM. *Acremonium kiliense* infection in a child with chronic granulomatous disease. *Braz J Infect Dis*. 2005 Dec;9(6):529-34.
- PENK A, AND L. PITTRAW. 1999. Role of fluconazole in the long-term suppressive therapy of fungal infections in patients with artificial implants. *Mycoses*. 42:91-96.
- GUARRO J, GAMS W, PUJOL I, GENÉ J. *Acremonium* species: new emerging fungal opportunists--in vitro antifungal susceptibilities and review. *Clin Infect Dis*. 1997 Nov;25(5):1222-9. Review
- PUSTERLA N, HOLMBERG TA, LORENZO-FIGUERAS M, WONG A, WILSON WD. *Acremonium strictum* pulmonary infection in a horse. *Vet Clin Pathol*. 2005 Dec;34(4):413-6.
- SCHINABECK MK, GHANNOUM MA. Human hyalohyphomycoses: a review of human infections due to *Acremonium* spp., *Paecilomyces* spp., *Penicillium* spp., and *Scopulariopsis* spp. *J Chemother*. 2003 Nov;15 Suppl 2:5-15. Review.
- SCOTT IU, FLYNN HW JR, MILLER D. Delayed-onset endophthalmitis following cataract surgery caused by *Acremonium strictum*. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2005 Nov-Dec;36(6):506-7.
- WALSH TJ, GROLL AH. Emerging fungal pathogens: evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty-first century. *Transpl Infect Dis*. 1999 Dec;1(4):247-61. Review
- YALAZ M, HILMIOGLU S, METIN D, AKISU M, NART D, CETIN H, OZTURK C, ISIK E, KULTURSAY N. Fatal disseminated *Acremonium strictum* infection in a preterm newborn: a very rare cause of neonatal septicaemia. *J Med Microbiol*. 2003 Sep;52(Pt 9):835-7.
- YAMAZAKI R, MORI T, AISA Y, NAKAZATO T, MIHARA A, IKEDA Y, OKAMOTO S. Systemic infection due to *Acremonium* after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Intern Med*. 2006;45(16):989-90.

Sérologie de la toxoplasmose

Définition des échantillons

Deux échantillons (pools de plasmas défibrinés lyophilisés) ont été adressés à chacun des 2377 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Six échantillons identifiés 0701-0702, 0703-0704, 0705-0706, 0707-0708, 0709-0710, 0711-0712 ont été proposés. Les échantillons étaient identiques deux à deux :

- 0705-0706 et 0707-0708 : absence d'IgG spécifiques
- 0701-0702 et 0709-0710 : présence d'IgG (taux moyen)
- 0703-0704 et 0711-0712 : présence d'IgG (taux fort)

Aucun échantillon ne contenait d'IgM anti-toxoplasme.

Méthode statistique et expression des résultats

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

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

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

Résultats des participants

1 - Titrage des IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne le titrage des IgG anti-toxoplasme, 2198 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (71,2%), soit avec deux réactifs (28,8%).

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

Les conclusions (« négatif », « limite » ou « positif ») rendues par les laboratoires ayant testé les échantillons 0705-0706 et 0707-0708 négatifs en IgG anti-toxoplasme sont détaillées dans le tableau XV.

Pour chacun des deux autres échantillons qui contenaient des IgG anti-toxoplasme à des concentrations diverses, les résultats des titrages IgG ainsi que les conclusions données par les laboratoires en fonction de la technique utilisée sont rassemblées dans les tableaux XVI et XVII.

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

Tableau XIV - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</u>	2272 (80,3%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	864
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	717
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	206
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	105
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	81
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	74
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	62
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmose G"	62
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	29
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	26
DIASORIN "Liaison Toxo IgG"	14
DPC France "Immulite toxoplasmose G"	10
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	9
BEHRING "Enzygnost Toxoplasmose IgG"	5
ABBOTT "IMX Toxo IgG version 2"	4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgG EIA II"	4
<u>LATEX :</u>	382 (13,5%)
FUMOUCHE "Toxolax"	270
BIORAD "Pastorex Toxo"	70
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	22
SERVIBIO "Servitex Toxo"	20
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</u>	61 (2,2%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	61
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</u>	51 (1,8%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	49
BIOMERIEUX "Antigène Toxo lyophilisé"	2
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</u>	51 (1,8%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	3
<u>IMMUNOTURBIDIMETRIE (Immunoturb.):</u>	3 (0,1%)
INSTR.LABORATORY "Quantex toxo"	3
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	10 (0,3%)
Total	2830 (100%)

Tableau XV - Echantillons négatifs 0705-0706 et 0707-0708

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Hémaggl.	Aggl.sens.	Immunoturb.	NP	total
Négatif	1517	263	40	38	30	2	4	1894
Limite	2		1					3
Positif	4							4
total	1523	263	41	38	30	2	4	1901

Tableau XVI - Echantillon 0701-0702 et 0709-0710

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	Latex	Hémaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	Total
Négatif	1	1						2
Limite	5	4						9
Positif	1478	245	42	36	30	2	8	933
total	1484	250	42	36	30	2	8	1852

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	28	35	19
m Tr	25	28	21
CV Tr (%)	14	24	13
intervalle 2 écart-types	10 - 61	6 - 138	9 - 48

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	569	546	31,3	23,3	10,6
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	492	481	12,9	2,1	16,6
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	131	126	20,3	2,9	14,1
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	63	59	59,9	3,7	6,3
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	51	49	24,4	3,0	12,4
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	48	45	270,3	16,7	6,2
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	44	41	19,9	2,0	10,1
DPC France "Immulite 2000 toxoplasmosse G"	39	37	30,7	3,3	10,8
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	13	12	43,3	5,8	13,3
<i>Tous réactifs confondus *</i>	1476	1422	25,0	12,4	49,4

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

Tableau XVII - Echantillon 0703-0704 et 0711-0712

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	Hemaggl.	Aggl.sens.	IFI	Immunoturb.	NP	total
Négatif								
Positif	1512	248	42	36	31	2	8	1879
total	1512	248	42	36	31	2	8	1879

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

	IFI	Hémaggl.	Latex
n	30	33	19
m Tr	91	110	74
CV Tr (%)	11	15	11
intervalle 2 écart-types	35 - 236	28 - 434	29 - 191

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	580	569	122,8	19,7	16,0
ABBOTT "AXSYM Toxo IgG"	499	478	40,1	4,6	11,6
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	131	126	83,8	15,3	18,2
BAYER "ToxoG/ADVIA Centaur"	63	60	202,1	13,5	6,7
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgG"	51	49	93,1	14,7	15,7
ROCHE "Elecys/modular Toxo G "	48	46	1107,1	254,4	22,9
BECKMAN"DXI Toxo IgG"	44	42	90,2	16,5	18,3
DPC France "Immulite 2000 toxoplasme G"	41	38	159,5	28,4	17,8
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	15	12	168,6	45,1	26,7
<i>Tous réactifs confondus *</i>	<i>1492</i>	<i>1449</i>	<i>93,4</i>	<i>50,2</i>	<i>53,7</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 XVIII - Technique immunoenzymatique : dispersion des titres des deux échantillons positifs Comparaison avec des échantillons de titre proche des opérations précédentes

Echantillons	Opération	Année	Titres (UI/ml)	
			le plus faible	le plus élevé
Titre autour de 25 UI/ml :				
0701-0702-0709-0710	07PAR1	2007	12,9	270,3
0605-0606	06PAR1	2006	11,4	219,6
0601-0602	06PAR1	2006	14,3	244,0
0501-0502-0503-0504	05PAR1	2005	13,0	63,8
0419-0420	04PAR2	2004	12,6	61,4
Titre autour de 90 UI/ml :				
0703-0704-0711-0712	07PAR1	2007	40,1	1107,1
1795-1995-2095	00PAR1	2000	32	151
6094-6194	99PAR1	1999	38	208

2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 2186 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (90,1%), soit avec deux réactifs (9,9%).

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

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

Tableau XIX – Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<u>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</u>	2246 (93,5%)
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	866
ABBOTT "AXSYM Toxo IgM"	715
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	210
BAYER "ToxoM/ADVIA Centaur"	103
BIOMERIEUX "Vidia Toxo IgM"	81
ROCHE "Elecsys/modular Toxo M"	73
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	60
DPC France "Immulite 2000 toxoplasrose M"	60
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	26
DPC France "Immulite toxoplasrose M"	12
DIASORIN "Liaison Toxo IgM"	11
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	8
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	6
DADE BEHRING "Enzygnost Toxoplasrose IgM"	5
ABBOTT "IMX Toxo IgM version 2"	4
ROCHE "Cobas Core Toxo IgM EIA"	3
DIASORIN "Eti toxoK – M Reverse Plus"	2
SFRI "Toxo IgM (alpha4/manuel)"	1
<u>LATEX :</u>	63 (2,6%)
FUMOUCHE "Toxolax"	48
BIORAD "Pastorex Toxo"	11
SERVIBIO "Servitex Toxo"	2
INSTR.LABORATORY "Toxocell latex"	2
<u>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.):</u>	31 (1,3%)
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<u>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</u>	28 (1,2%)
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<u>ISAGA :</u>	24 (1,0%)
BIOMERIEUX "Toxo ISAGA"	
<u>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. Sens.):</u>	3 (0,1%)
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<u>REACTIF autre ou non précisé (NP) :</u>	7 (0,3%)
Total	2402 (100%)

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

Echantillons 0701-0702 et 0709-0710

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens	NP	Total
Négatif	1449	18	19	17	12	1	6	1522
Limite	21							21
Positif	3				4			7
Total	1473	18	19	17	16	1	6	1550

Echantillons 0703-0704 et 0711-0712

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens	NP	Total
Négatif	1493	20	16	17	12	1	6	1565
Positif	6				4			10
Total	1499	20	16	17	16	1	6	1575

Echantillons 0705-0706 et 0707-0708

Technique / Conclusion	IE	Hémaggl.	ISAGA	IFI	Latex	Aggl.sens	NP	Total
Négatif	1507	24	12	22	70	4	2	1641
Positif								
Total	1507	24	12	22	70	4	2	1641

3 - Cas clinique

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

Comme le précise la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale, le titrage des IgG et la recherche des IgM anti-toxoplasme doivent être suivis d'une conclusion apportée au médecin prescripteur « ...sur la présence ou l'absence d'anticorps et sur l'ancienneté probable de l'infection en cas de positivité ; le biologiste propose les modalités de suivi sérologique éventuel. »

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

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

Les conclusions apportées pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif » sont détaillées dans le tableau XXII et comparées à celles obtenues lors des deux opérations précédentes (05PAR1 et 06PAR1) pour les échantillons de titres similaires.

Tableau XXI - 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.

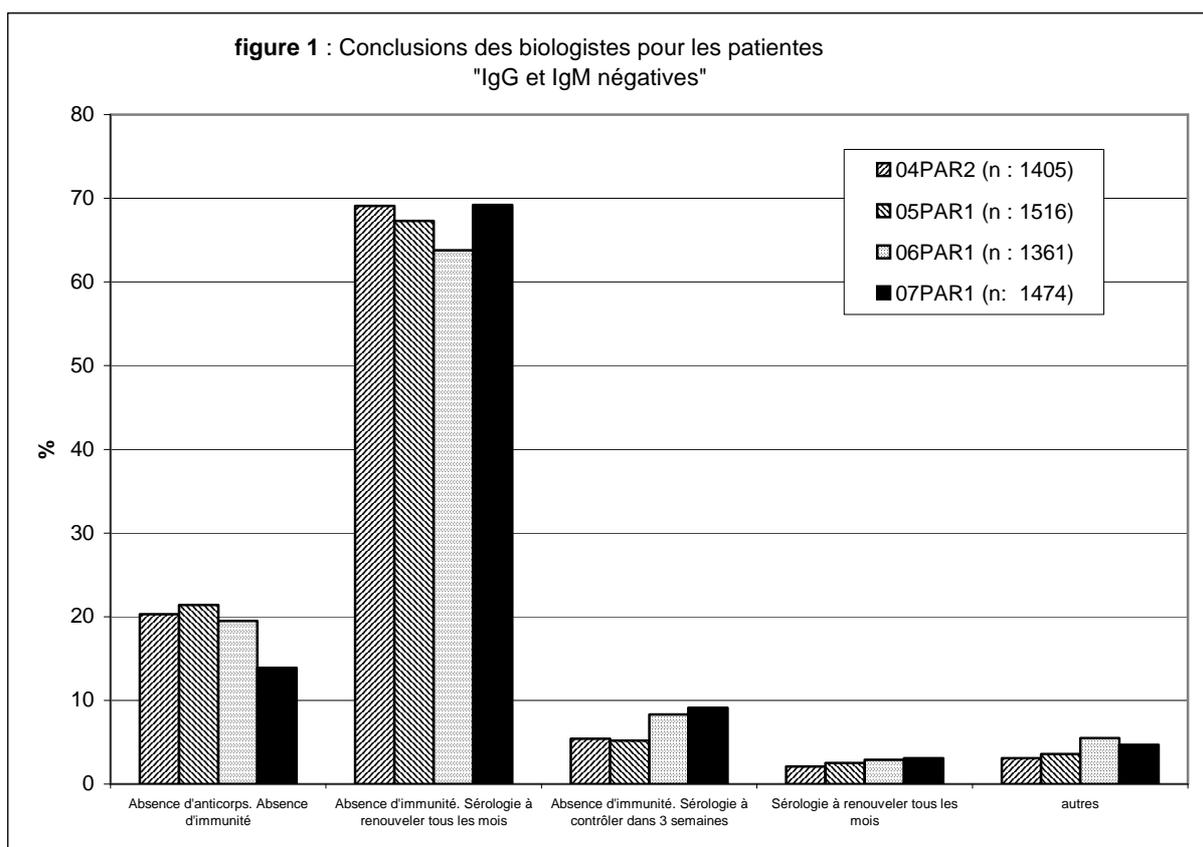


Tableau XXII - Conclusions des biologistes pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif »
 Comparaison avec les échantillons de titre similaire des deux opérations précédentes

Echantillon	0501-0502 0503-0504	0601-0602	0605-0606	0701-0702 0709-0710	0703-0704 0711-0712
Opération	05PAR1	06PAR1	06PAR1	07PAR1	07PAR1
Titre moyen en IgG (UI/ml)	22,3	21,2	21,8	25,0	93,4
Effectif	1450	707	714	1449	1474
Conclusion (%) :					
TOX C + (TOX H ou TOX I)	56,0	62,5	59,6	66,8	65,9
TOX C "immunité ancienne probable"	26,3	19,7	19,9	17,3	18,9
TOX H "sérologie à contrôler dans 3 semaines"	12,8	11,3	13,2	12,4	11,5
TOX I "à confirmer par une nouvelle sérologie"	2,4	2,0	1,3	0,9	1,5
autres	2,5	4,5	6,0	2,6	2,2

Commentaires

En ce qui concerne la recherche et le titrage des IgG anti-toxoplasme, l'analyse des résultats obtenus avec les échantillons négatifs 0703-0704 et 0705-0706 montre quatre (0,2%) résultats faussement positifs (tableau XV) : un faux positif sur un seul des deux échantillons pour deux laboratoires et un faux positif sur chacun des deux échantillons pour un laboratoire (il s'agit, dans ce dernier cas, d'une erreur de retranscription des résultats sur le bordereau-réponse).

En ce qui concerne les deux échantillons positifs en IgG, on note l'absence de faux « négatif » pour l'échantillon 0703-0704-0711-0712 fortement positif (tableau XVII) et deux (0,1%) faux négatifs pour l'échantillon 0701-0702-0709-0710 de titre plus faible (tableau XVI).

D'autre part, l'étude des titres obtenus pour les deux échantillons « IgG positifs » montre une dispersion importante des résultats avec les réactifs immunoenzymatiques (tableau XVIII). Jusqu'en 2005, le rapport entre le titre le plus élevé et le titre le plus faible obtenus pour un même échantillon s'établissait autour de 5. Depuis l'introduction sur le marché du réactif ROCHE « Elecsys/modular » en 2006, ce rapport est passé à 20 voire 27 selon l'échantillon considéré. Ainsi, en dépit de l'existence d'un étalon international qui permet de quantifier en UI/ml les IgG anti toxoplasme, les titres en IgG de l'échantillon 0703-0704-0711-0712 obtenus avec le réactif ROCHE d'une part et le réactif ABBOTT d'autre part sont respectivement de 1107 UI/ml et 40 UI/ml.

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

Si l'on considère de façon globale les résultats des 4766 tests réalisés par l'ensemble des 2186 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note 17 (0,36%) conclusions incorrectes « positif » (tableau XX).

Sept laboratoires ont rendu les deux échantillons testés faussement « positif ». Le détail des réactifs utilisés par ces laboratoires est le suivant : quatre latex (trois BIORAD et un FUMOUE), deux Vidas compétition bioMérieux et un Axsym ABBOTT. Trois laboratoires ont rendu un échantillon « positif » sur les deux testés.

Le pourcentage de laboratoires ayant apporté une conclusion globale, à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM anti toxoplasme, sur chaque échantillon est de 96,2% (+1% par rapport à celui des deux opérations précédentes 05PAR1 et 06PAR1).

Sur les 1474 laboratoires concernés par les échantillons « IgG et IgM négatifs », on note que (figure 1):
- 69,2% ont rendu la conclusion attendue : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à renouveler tous les mois » (TOX A + TOX F) et 9,1% ont rendu une conclusion très proche, également considérée comme acceptable : « Absence d'anticorps. Absence d'immunité » + « Sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX A + TOX H).

- 17% ont rendu une interprétation correcte mais incomplète (TOX A seule ou TOX F seule),
Soit 95,3% de conclusions correctes, score similaire à celui obtenu lors de l'opération précédente (94,5%).

Pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue : « Immunité ancienne probable » + « sérologie à contrôler dans 3 semaines » (TOX C + TOX H) ou bien « Immunité ancienne probable » + « à confirmer par une nouvelle sérologie » (TOX C + TOX I) a été rendue par environ 66% des laboratoires. On n'observe pas de lien entre le titre moyen en IgG de l'échantillon et le pourcentage d'interprétations correctes (tableau XXII).

Enfin, le statut d'immunité ancienne (TOX C) hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif » est signalé par 84,1 à 84,8% des laboratoires selon l'échantillon considéré.

Sérologie du paludisme

Définition de l'échantillon

Proposée pour la onzième fois depuis 1986 (année d'introduction de cette analyse dans le cadre du contrôle national de qualité), la sérologie du paludisme a concerné 65 laboratoires ayant déclaré la réaliser sur leur site. Un échantillon E13 contenant 1 ml de plasma défibriné lyophilisé a été adressé à chacun d'entre eux.

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

Echantillon E13 : moyennement positif ++ : titre moyen de 320 en immunofluorescence indirecte avec l'antigène *Plasmodium falciparum*.

Résultats des participants

Sur 65 laboratoires inscrits pour cette analyse, 58 ont renvoyé leur bordereau réponse dans les délais. Parmi eux, 6 ont indiqué qu'ils n'effectuaient plus cette analyse.

Le bilan des techniques et réactifs employés par les 52 laboratoires participants montre que la majorité d'entre eux (44/52) utilisent une seule technique de dépistage (IFI : 38 ou ELISA : 6). Seuls 8 laboratoires utilisent deux réactifs : dans tous les cas, il s'agit d'une technique IFI, complétée par une technique ELISA (7 laboratoires) ou une électrosynérèse (1 laboratoire). La place occupée par chaque réactif dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie du paludisme est détaillée dans le tableau XXIII : l'IFI, réalisée en majorité avec le réactif Falciparum Spot IF de BIOMERIEUX garde une place prépondérante tandis que l'unique réactif ELISA « Malaria Antibody Test de DIAMED » mis sur le marché fin 2004 continue de progresser. Le détail des titres obtenus avec le réactif le plus utilisé « Falciparum spot IF » est indiqué dans le tableau XXIV.

Tableau XXIII - Part (en %) des différentes techniques utilisées par les laboratoires en 2003, 2006 et 2007

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

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

titre	80	160	200	320	400	640	800	1280	2560
effectif	1	12	2	5	1	11	2	4	1

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 2,84 à 7,52 (moyenne : 4,57).

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* avait déjà été mise en défaut lors de la précédente opération de contrôle qui comportait également un échantillon positif.

Concernant l'IFI, tous les résultats ont été rendus positifs. Les titres obtenus avec le réactif le plus utilisé (Falciparum spot IF BIOMERIEUX) sont tous supérieurs à 40 (seuil de positivité du réactif). La médiane et la moyenne géométrique sont respectivement égales à 320 et 375.