

I. REMARQUES GENERALES

Pour la deuxième évaluation du cycle 2000 (enquête 02/2000) le matériel suivant a été expédié le 25 avril 2000.

1.1. Quatre échantillons lyophilisés pour identification

Il s'agissait de 4 cultures pures. Pour un échantillon, les tests de sensibilités pour 7 antibiotiques ont été demandés.

Une culture a été envoyée à titre didactique, les résultats ne seront pas pris en considération pour l'évaluation de la performance des laboratoires. Pour l'échantillon marqué avec un astérisque, l'identification était obligatoire pour les urologues agréés.

1.2. Deux suspensions formolées de selles pour la recherche de parasites.

1.3. Deux échantillons lyophilisés pour la sérologie de la toxoplasmose.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

1. Pour les identifications :	271
2. Pour la parasitologie :	250
3. Pour la sérologie :	243

II. IDENTIFICATIONS

2.1 Culture M/903

Cette souche, isolée d'une selle d'un patient souffrant d'une gastro-entérite est une *Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen.

Le genre *Salmonella* ne comprend que deux espèces :

1. *S. enterica*, est réparti en 6 sous-espèces
 - *S. enterica* subsp. *enterica* (1454 sérovars)
 - *S. enterica* subsp. *salamae* (489 sérovars)
 - *S. enterica* subsp. *arizonae* (94 sérovars)
 - *S. enterica* subsp. *diarizonae* (324 sérovars)
 - *S. enterica* subsp. *houtenae* (70 sérovars)
 - *S. enterica* subsp. *Indica* (12 sérovars)

2. *S. bongori* (20 sérovars)

Jusqu'à présent, 2463 sérovars ont été décrits.

La plupart des salmonelles isolées chez l'homme et les animaux homéothermes appartiennent à la sous-espèce des *enterica*. Les autres sous-espèces sont isolées à partir d'animaux poïkilothermes ou dans l'environnement (très rarement chez l'homme).

Les sérovars appartenant aux *S. enterica*, sous-espèce *enterica*, sont généralement nommés d'après le lieu géographique où ils ont été isolés pour la première fois. Le nom commence par une majuscule et n'est pas écrit en italique.

Selon le Code de la Nomenclature, *S. Typhimurium* devrait être indiqué comme *S. enterica*, sous-espèce *enterica*, sérovar Typhimurium. Puisque cette nomenclature est relativement compliquée, il est convenu de ne mentionner, pour la sous-espèce *enterica*, ni l'espèce ni la sous-espèce, mais uniquement le sérovar ; celui-ci commence par une majuscule et n'est pas écrit en italique.

Les sérovars des autres sous-espèces sont nommés d'après leur formule antigénique suivant le nom de la sous-espèce.

Il semble suffisant qu'un laboratoire de routine réponde *Salmonella* sp. Etant donné que le sérotypage est surtout important au niveau épidémiologique et qu'il a peu d'implications cliniques.

Pour le fonctionnement du laboratoire de référence, il est intéressant que le laboratoire envoyant les souches ait déjà testé les souches avec anti-O : 4,5 (groupe B), anti-O : 9 (groupe D) et anti-O : 6,7,8 (groupe C).

I. Wybo
(laboratoire de référence pour *Salmonella* et *Shigella* – I.S.P.)

Douze participants ont répondu *Salmonella* du groupe A pour cet échantillon. Nous avons recherché l'origine du problème et nous avons pu constater que ces douze participants ont basé leur réponse sur le résultat obtenu avec leur galerie API 20E : code 0104552 = très bonne identification (99,8%) de *Salmonella paratyphi* A. Il est à remarquer que dans le catalogue fourni avec cette galerie, il est indiqué que ce résultat doit être confirmé par des tests sérologiques.

REFERENCES

1. Michel-Yvan Popoff, Jochen Bockemühl, Frances W. Brenner Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme. Res. Microbiol. 151 (2000) 63-65.
2. F.W.Brenner, R.G.Villar, F.J.Angulo, R. Tauxe, B. Swaminathan *Salmonella* Nomenclature. J. Clin. Microbiol. 38 (7) 2465-2467.

2.2. Culture M/ 1733

Cette souche, isolée d'une hémoculture, est une souche d'*Eikenella corrodens*. Le patient était souffrant d'une pneumonie par aspiration après une tentative de suicide.

2.2.1. Taxonomie

Identifié pour la première fois en 1948 et décrit par Eiken en 1958 en tant que *Bacteroides corrodens*, *Eikenella corrodens* fait partie du genre *Eikenella* qui ne contient actuellement que cette espèce.

2.2.2. Identification

L'*Eikenella corrodens* est un bâtonnet à gram négatif, immobile (sans flagelles). Il est anaérobie facultatif, capnophile, oxydase positif et catalase négatif. L'organisme n'est pas capsulé, pousse plutôt lentement et de préférence sur des milieux riches en hémine. Après 48 heures, les colonies sont petites, transparentes, non-hémolytiques avec un centre clair, qui se développe en lisière aplatie. Après 3 à 4 jours de croissance, les colonies deviennent jaunes. Son enracinement dans le milieu agar ("pitting") est caractéristique pour ce germe, mais dépend du milieu et peut s'avérer même totalement absent dans une minorité des souches. Traditionnellement une odeur d'hypochlorite est décrite, mais fait plutôt penser à un *Haemophilus*. *E. corrodens* appartient au groupe des HACEK (l'acronyme de *Haemophilus*, *Actinobacillus*, *Cardiobacterium*, *Eikenella* et *Kingella*), caractérisé par les particularités suivantes : bâtonnets à gram négatif poussant lentement, mauvaise ou non-croissance sur milieu Mc Conkey, aimant le CO₂, ayant besoin d'hémine et ayant une préférence pour les infections des valvules cardiaques. *E. corrodens* ne fermente aucun sucre, un aspect qui peut être utilisé dans la différenciation.

2.2.3. Ecologie et importance clinique

E. corrodens fait partie de la flore habituelle de la bouche et des voies respiratoires supérieures. Les muqueuses gastro-intestinales et génitales chez la femme peuvent être colonisées. Dans la plupart des cas, il est isolé à partir d'infections mixtes et souvent avec d'autres flores caractéristiques pour les muqueuses supérieures. L'infection est dans la majorité des cas lente et indolente. Traditionnellement, l'inoculation se fait par la salive (périodontite !) ; de ce fait, les personnes souffrant de morsures (humaines), les personnes qui se rongent les ongles et les personnes qui se droguent par voie intraveineuse (qui "désinfectent" l'aiguille ou le lieu de la piqûre avec leur salive) sont le plus fréquemment confrontées à des abcès causés par ce germe. Les mauvaises odeurs dégagées par de telles inflammations font penser en premier lieu aux infections anaérobies. De nombreuses autres

localisations, telles que les abcès aux poumons, l'empyème pleural, les infections gynécologiques (IUD), l'ostéomyélite... ont été décrites. Il est important de signaler aussi que *E. corrodens* ainsi que d'autres organismes du groupe HACEK sont responsables de 3 à 5% des cas d'endocardite.

2.2.4. Antibiotique

E. corrodens est sensible dans la plupart des cas. Les tests se font de préférence sur HTM (Haemophilus Test Medium). Des traitements à succès avec de l'ampicilline, des céphalosporines de la deuxième ou de la troisième génération et des tétracyclines ont été décrits. In vitro, le germe est sensible aux fluoroquinolones. Traditionnellement, on décrit une résistance à la clindamycine, aux pénicillines semi-synthétiques résistant à la pénicillinase, à l'érythromycine, à la vancomycine, au métronidazole et aux aminoglycosides. La résistance grâce à la production de β -lactamase est rare et correspond aux combinaisons inhibitrices de β -lactamase.

H. De Beenhouwer
(O.L.V. Ziekenhuis Aalst Dept. Microbiologie – Serologie)

REFERENCES

1. Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. 1999. American Society for Microbiology. Washington D.C.
2. Appleton and Lange . Zinsser Microbiology: 20th edition
3. Mandell G.L. et al. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Pracxtice of Infectious Diseases. Fifth Edition. 2000. Churchill Livingstone
4. Kugler et al. Determination of the antimicrobial activity of 29 clinically important compounds tested against fastidious HACEK group organisms. *Microbiol Infect Dis* 1999;34:73-76.
5. Berbari et al. Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms. *Mayo Clin Proc* 1997;72: 532-542.

2.3. Culture M/2103

Isolée à partir d'une hémoculture est une *Arcanobacterium pyogenes*. L'hémoculture provenait d'un agriculteur âgé de 72 ans. Il est diabétique, souffre d'un ulcère profond du talon gauche et d'une ostéomyélite chronique. La septicémie est apparue immédiatement après le placement d'un by-pass femoropoplité suite à une déficience artérielle à la jambe gauche. Il s'agissait d'un échantillon didactique.

2.3.1. Introduction

Arcanobacterium pyogenes ou *Actinomyces pyogenes*, et dans une littérature plus ancienne aussi nommé *Corynebacterium pyogenes*, est bien mieux connu dans le monde vétérinaire que dans l'infectiologie humaine. Cet organisme peut causer un large spectre de graves infections chez les bovins, les moutons, les cochons, les chèvres ainsi qu'au niveau de la volaille. La proximité du bétail dans l'histoire épidémiologique de cette zoonose se manifeste également par les informations qui accompagnent cet isolement : il s'agissait d'ailleurs d'un paysan diabétique avec un malum perforans, développant une septicémie à la suite d'une tentative de revascularisation et chez qui le genre bactérien *Arcanobacterium pyogenes* a également été isolé du liquide de la plaie au niveau du pied dans une flore mélangée de germes aérobies et anaérobies.

2.3.2. Taxonomie

Dans la littérature, cet organisme change de temps à autre de genre, comme il s'avère dans la nomenclature susmentionnée. Une analyse biologique moléculaire récente des séquences du 16S rRNA du genre *Actinomyces* rassemble sous un seul genre les organismes *Arcanobacterium pyogenes*, *Arcanobacterium bernardiae* et *Arcanobacterium phocae* avec l'espèce-type *Arcanobacterium haemolyticum*.

2.3.3. Importance clinique

Là où l'organisme *A. haemolyticum* est surtout connu comme germe problématique lors de l'isolement des agents de pharyngites ou d'amygdalites (voir également l'enquête 01/1998, culture M/851) et où il faut faire la distinction avec le *Streptococcus pyogenes*, la littérature est plus réduite en ce qui concerne la signification clinique des *A. pyogenes* en médecine humaine. Des cas sporadiques d'infections des tissus mous, d'otites, d'infections intra-abdominales, de cystites, de septicémies et d'endocardites ont été décrits. La relation entre une septicémie à *Arcanobacterium pyogenes* et une plaie infectée – chez un patient diabétique ou non – dans un environnement rural, se retrouve régulièrement dans l'anamnèse.

2.3.4. Identification

Les Arcanobactéries poussent sur un agar au sang et montrent une β -hémolyse, surtout dans un environnement riche en CO₂. Des colonies visibles et l'hémolyse n'apparaissent clairement qu'après incubation pendant 48 heures. *A. pyogenes* a les plus grandes colonies (1mm de diamètre après 48 heures) et la β -hémolyse la plus nette. Ce sont des bâtonnets immobiles, à catalase négative et à gram positif. La galerie API Coryne a donné sans difficulté l'identification correcte (profil 4732760; % Id. 99,9 *A. pyogenes*). Des tests clés pour distinguer l'organisme *A. haemolyticum*, tels que la gélatinase (positive pour *A. pyogenes*), la β -glucuronidase (positive pour *A. pyogenes*) ainsi que l'assimilation de xylose (positive pour *A. pyogenes*) se trouvent également dans ce système d'identification. Le test CAMP « à l'envers », utilisé pour confirmer l'identification des *A. haemolyticum* (inhibition de la β -hémolyse d'un *Staphylococcus aureus* sur un agar au sang de mouton) est négatif en présence d'*A. pyogenes*. *Arcanobacterium pyogenes* montre l'antigène du groupe G de Lancefield (Pastorex®Strep). *A. haemolyticum* n'a pas de réaction dans ce test d'agglutination au latex. Le profil par chromatographie en phase gazeuse de la composition de la paroi cellulaire de l'acide gras (Professeur Dr J. Verhaegen, K.U.Leuven) montre un excès de C_{14:0}, C_{16:0} et C_{18:1 w9c}, ce qui, selon l'édition récente du Manual of Clinical Microbiology (Murray P.R. et al.), correspond au genre *Arcanobacterium*.

2.3.5. Sensibilité aux antibiotiques

La plupart des Arcanobactéries sont sensibles aux antibiotiques à β -lactamase, les tétracyclines, la rifampicine et les lincosamines. Leur sensibilité aux sucres aminés et aux quinolones est variable. Les macrolides sont considérés comme moyen de premier choix pour le traitement des pharyngites à *A. haemolyticum* vu l'excellente activité in vitro, la crainte pour la tolérance quant à la pénicilline et l'activité intracellulaire des macrolides. La souche envoyée d'*A. pyogenes* s'est avérée néanmoins insensible à l'érythromycine et à la clindamycine in vitro (pousse sur un agar au sang jusqu'au bord des disques Neo-Sensitabs®Rosco).

I. Surmont (Heilig Hartziekenhuis-VZW Roeselare)

REFERENCES

1. Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. 1999. American Society for Microbiology. Washington D.C.
2. Reddy I., Ferguson D.A., Sarubbi, F.A. Endocarditis Due to *Actinomyces pyogenes*. *Clin. Inf. Dis.* 1997 ; 25: 1476-1477.
3. Lynch M., O'Leary J., Murnaghan D., Cryan B. *Actinomyces pyogenes* septic arthritis in a diabetic farmer. *J. Infect.* 1998 ; 37: 71-73.
4. Pascual Ramos C., Foster G., Collins M.D. Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997 ; 47: 46-53.
5. Funke G., von Graevenitz A., Clarridge J.E., Bernard K.A. Clinical Microbiology of coryneform bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 1997 ; 10: 125-159.

2.4. Culture M/2237

est une *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) isolée à partir d'un pus d'oreille. Le patient souffrait d'une otite externe.

Le texte ne nous est pas parvenu à temps.

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=271)

3.1 Culture M/903 *Salmonella* Typhimurium var. Copenhagen (selles) N=271

<u>Salmonella typhimurium</u>	7	(28,8%)
<u>Salmonella enterica</u>	2	(0,7%)
<u>Salmonella groupe B</u>	54	(24,4%)
<u>Salmonella sp</u>	118	(43,5%)
<u>Salmonella factor 4</u>	1	(0,4 %)
Salmonella groupe A	12	
Salmonella non typhimurium	1	
Salmonella cholerasuis	1	
Serratia liquefaciens	1	
Citrobacter freundii	1	
Sans réponse	1	

3.2 Culture M/1733 *Eikenella corrodens* (hémoculture) N=271

<u>Eikenella corrodens</u>	235	(86,7%)
* <u>Eikenella sp</u>	3	(1,1%)
Haemophilus aphrophilus	1	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus sp.	2	
Kingella kingae	1	
Kingella denitrificans	3	
Klebsiella oxytoca	1	
Neisseria cinerea	1	
Nocardia sp	1	
Fusobacterium sp	1	
Capnocytophaga achracea	1	
Bacil Gram négatif	4	
Pasteurella multocida	5	
Pas de croissance	3	
Sans réponse	7	

* cfr commentaire p.5

3.3. Culture M/2103 *Arcanobacterium pyogenes* (hémoculture)
N=271

<u>Arcanobacterium pyogenes</u>	152	(56,1%)
<u>Actinomyces pyogenes</u>	74	(27,3%)
* <u>Corynebacterium pyogenes</u>	3	(1,1%)
Actinomyces sp.	1	
Arcanobacterium haemolyticum	17	
Arcanobacterium corrodens	1	
Arcanobacterium sp.	6	
Abiotrophia adiacens	1	
Corynebacterium sp	1	
Erysipelothrix rhusiopathiae	1	
Streptococcus β hemolytisch	2	
Streptococcus groupe B	1	
Streptococcus milleri	1	
Rhodococcus sp	1	
Oxidase – Gram-	1	
bacil Aerobie Gram+	1	
Sans réponse	7	

* nom ancien

3.4 Culture M/2237 *Pseudomonas aeruginosa* (pus d'oreille)
N=271

<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	269	(99,3%)
Pseudomonas fluorescens	1	
Sans réponse	1	

IV. ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme-type a été réalisé par plusieurs experts selon les deux méthodes les plus couramment utilisées et pouvant servir de référence : Méthode par diffusion de disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

4.1 Culture M/2237

	Réponse attendue	S	I	R	Non testé
piperacilline	S	247	0	3	21
amikacine	S	262	2	0	7
fluoroquinolone	S	252	4	8	7
ceftazidime	S	250	0	9	12
carbapenem	S	252	0	0	19
tobramycine	S	204	1	0	66
aztréonam	S	218	3	5	44

IV. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Chaque participant a reçu 2 suspensions de selles formolées P/2231 et P/2283.

Pour chaque échantillon un renseignement clinique a été fourni:

P/2231 “Un garçon âgé de 12 ans séjournant avec ses parents au Congo, rentre chaque année en Belgique pour les vacances scolaires. Il se présente à la consultation de l’IMT d’Anvers avec des troubles intestinaux. Il nage fréquemment dans les lacs. Résultats de labo : $8,4 \times 10^9$ gb/l avec 65% ($0,54 \times 10^9$ /l) éosinophiles, sédimentation normale et analyses hépatiques normales.”

P/2283 “ Infirmière âgée de 32 ans travaille dans une institution médicale, se rend à la consultation avec pour seul symptôme la fatigue. L’hématologie et la chimie de routine sont normales. A la deuxième consultation la patiente se plaint de diarrhée irrégulière.”

P/2231 contenait des œufs de *Schistosoma mansoni* et des kystes rares d’*Entamoeba coli*. Dans l’échantillon P/2283 aucun parasite n’a été retrouvé par le comité d’expert lors d’un contrôle préalable à l’enquête.

5.2. Les résultats

Les résultats de l’évaluation externe sont repris dans les tableaux ci-dessous. Les codes entre parenthèses se réfèrent aux tableaux de parasitologie de l’ISP-LP et sont également à consulter sur le site web: <http://www.iph.fgov.be>

Tableau 1. Pour l'échantillon P/2231, les parasites suivants ont été retrouvés
(nombre de participants = 250)

Nom	Nombre de résultats
(0) Absence de parasites	3
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	1
(7) <i>Cyclospora sp</i>	1
(9) <i>Endolimax nana</i>	5
(10) <i>Entamoeba coli</i>	70
(12) <i>Entamoeba hartmanni</i>	1
(13) <i>Entamoeba histolytica</i>	3
(14) <i>Entamoeba dispar</i>	1
(17) <i>Giardia lamblia, G. intestinalis</i>	2
(20) <i>Sarcocystis hominis</i>	8
(81) <i>Taenia saginata</i>	1
(84) <i>Dicrocoelium dendriticum</i>	2
(92) <i>Paragonimus westermani</i>	1
(93) <i>Schistosoma haematobium</i>	1
(94) <i>Schistosoma intercalatum</i>	1
(96) <i>Schistosoma mansoni</i>	242
Total	343

Tableau 2. Pour l'échantillon P/2283, les parasites suivants ont été retrouvés
(nombre de participants = 250)

Nom	Nombre de résultats
(0) Absence de parasites	223
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	9
(7) <i>Cyclospora sp</i>	1
(13) <i>Entamoeba histolytica</i>	1
(16) <i>Enteromonas hominis</i>	1
(17) <i>Giardia lamblia, G. intestinalis</i>	2
(20) <i>Sarcocystis hominis</i>	1
(72) <i>Trichostrongylus sp</i>	1
(80) <i>Hymenolepis nana</i>	4
(94) <i>Schistosoma intercalatum</i>	1
(96) <i>Schistosoma mansoni</i>	1
Total	245

Tableau 3. Parasites ou mélanges de parasites retrouvés dans l'échantillon P/2231

Parasites	Nombre de résultats
0	3
10/17/96	1
10/20/96	4
10/92/96	1
10/96	62
12/96	1
13/14	1
13/96	2
20/96	3
6/96	1
7	1
81/96	1
84/96	2
9	1
9/10/96	2
9/17	1
9/96	1
93	1
94/96	1
96	160
Total	250

Pour l'échantillon P/2283 aucun mélange de parasites a été détecté.

5.3. Discussion des résultats

5.3.1 Echantillon P/2231

250 laboratoires ont envoyé un résultat.

242 (97%) laboratoires ont retrouvé des œufs de *Schistosoma mansoni* (pure ou dans un mélange avec d'autres parasites).

62 (25 %) des participants ont retrouvé un mélange d'œufs de *Schistosoma mansoni* et de kystes rares d'*Entamoeba coli*. Le tableau 3 montre en détail les parasites (unique ou mélange) retrouvés dans cette suspension de selles.

5.3.2 Echantillon P/2283

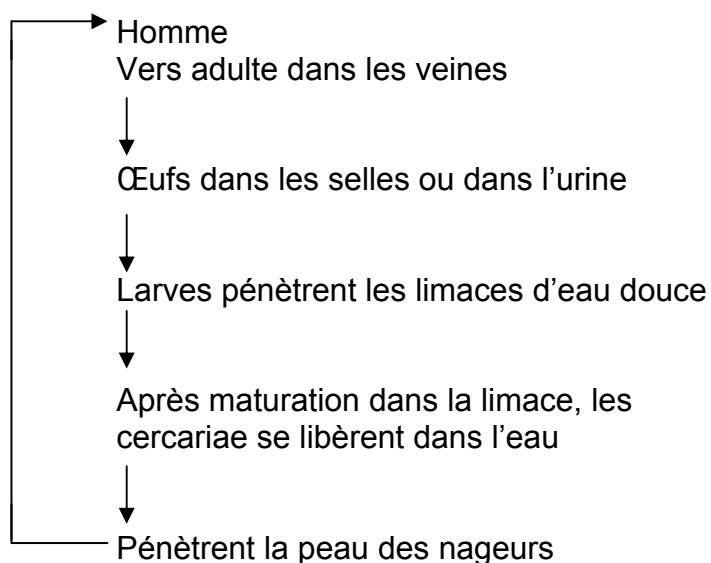
Un résultat correct, soit absence de parasites, a été mentionné par 223 (91%) des 245 laboratoires participants. Le tableau 2 montre en détail les parasites retrouvés par les 22 laboratoires. *Cryptosporidium sp.* a été retrouvé par 9 participants (3,6%) et *Hymenolepis nana* par 4 participants (1,6%).

5.4. Description des parasites

Tableau 4. aperçu des Schistosomae, pathogène pour l'Homme

Species	Geographic distribution	Reservoir hosts	Intermediate snail host genus	Diagnostic specimen	Egg size
Schistosoma mansoni	Africa, Malagasy, West Indies, Surinam, Brazil, Venezuela	Humans, nonhuman primates	Biomphalaria	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	114-180 by 45-73
Schistosoma japonicum	China, Indonesia, Japan, Philippines	Humans, dogs, cats, cattle, water buffalo, pigs	Oncomelania	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	55-85 by 40-60
Schistosoma mekongi	Mekong River basin	Humans, dogs, rodents	Lithoglyphopsis	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	30-55 by 50-65
Schistosoma haematobium	Africa, Middle East, India, Portugal	Humans	Bulinus	Urine, stool (some cases), serologic specimen	112-170 by 40-70
Schistosoma intercalatum	Central and western Africa	Humans	Bulinus	Stool, rectal biopsy, serologic specimen	140-240 by 50-85

5.5. Cycle



5.6. Diagnostic

5.6.1 Méthodes parasitologiques

Morphologie et caractéristiques, voir tableau 4.

Pour rechercher des œufs de *Schistosoma* dans les matières fécales, les techniques parasitologiques standard conviennent.

La technique de flottation au sulfate de zinc ne peut être utilisée vu la densité importante des œufs.

On peut trouver des œufs de *S. haematobium* dans les urines en analysant les sédiments ou en appliquant des techniques de filtration sur membranes.

Les œufs de *Schistosoma* sont excrétés de façon irrégulière et leur nombre est en général peu élevé. L'analyse d'échantillons de différents jours est donc utile (au minimum 3).

Si l'analyse des échantillons de matières fécales reste négative, une biopsie du rectum peut parfois aider et des œufs peuvent être détectés par l'analyse d'une petite partie de la muqueuse.

5.6.2 Diagnostic immunologique

Le sérodiagnostic est principalement utilisé pour démontrer des anticorps. Les antigènes d'œufs solubles et les extraits de vers adultes sont surtout utilisés dans les techniques ELISA et hémagglutination indirecte. Les résultats ne sont pas vraiment spécifiques aux espèces et il existe de très fortes réactions croisées selon l'antigène utilisé.

Dans certains laboratoires de recherches, on fait usage d'anticorps monoclonaux pour rechercher des glycoprotéines spécifiques au genre (antigènes).

T. Vervoort
(Institut de Médecine Tropicale
Laboratoire de Biologie Clinique)

REFERENCES

1. L.R. Ash & Thomas C. Orihel. Parasites: A Guide to Laboratory Procedures and Identification. American Society of Clinical Pathologists, Chigaco, 1987.
2. L. S. Garcia. Practical Guide to Diagnostic Parasitology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1999.
3. A. Davis in Manson's Tropical Diseases, Edited by G.C. Cook, W.B. Saunders Company Ltd. Twentieth ed. 1996, p.1413-1455.

VI. SEROLOGIE DE TOXOPLASMOSE

6.1. Description des échantillons

Nous avons envoyé 2 échantillons lyophilisés :

- S/ 1364 : IgG positif et IgM faible positif
- S/1365 : IgG positif et IgM faible positif

Les échantillons étaient accompagnés de l'information clinique suivante :

« Les 2 échantillons proviennent du même patient.
Une jeune femme de 21 ans est testée lors de sa grossesse.

Echantillon S/1364 : prise de sang à 10 semaines de gestation.
S/1365 : prise de sang à 14 semaines de gestation. »

6.2. Participation

Au total 243 laboratoires ont participé à cette enquête.

6.3. Réactifs utilisés

Le tableau suivant donne la répartition des principaux réactifs, en nombre, utilisés par les participants pour le dosage des IgG et IgM

Fabriquant	Réactif IgG	nombre	Réactif IgM	nombre
Abbott	Toxo IgG	43	Toxo IgM	41
	Toxo MEIA	67	Toxo MEIA	65
	Non spécifié	5	Non spécifié	5
bioMérieux	ToxolG	65	ToxolG	63
	ToxolG-IFA	5	ToxolG-IFA	5
	Toxo-spot IF	2	Toxo –spot IF	6
			Toxoplasma IgM capture	4
			Toxo ISAGA	1
	Non spécifié	3	Non spécifié	2
Beckman	Access Toxo IgG	17	Access Toxo IgM	16
Sorin	ETI-ToxoK-G plus	16	ETI-ToxoK-M plus	17
	Toxo IgG	1	Toxo IgM	1
DadeBehring	Toxo IgG-EIA	1	Toxo IgM-EIA	1
	Toxoplasmosse IgG	1	Toxoplasmosse IgM	1
	autres	1	autres	1
DPC	Toxo IgG	2	Toxo IgM	2
Pacia	Toxo IgG	1	Toxo IgM	1
Roche	Toxo IgG 2 cobas core	3	Toxo IgM rec cobas core	3
Organon	Toxonostika IgG	1	Toxonostika IgM	1
Biorad	New Platelia Toxo IgG	4	New Platelia Toxo IgM	4
Home made		1		1
autres		2	autres	2
Non spécifié		2	Non spécifié	2

IgA a été recherchée par 22 participants avec:

Toxo MEIA d'Abbott, 2 participants,
Platelia Toxo IgA de Biorad , 8 participants,
ETI-Toxok-A plus de Sorin, 8 participants,
Toxo-spot IF de bioMérieux, 1 participant,
Home-made, 3 participants

IgG avidité a été dosée par 61 participants avec :

Toxo IgG Avidity de bioMérieux, 58 participants
Toxo IgG Avidity de DadeBehring, 3 participants

6.4. Résultats

6.4.1. Distribution des résultats pour l'échantillon S/1364

Résultat	IgG N=243	IgM N=245	IgA N=22	IgG avidité N=61
Sans	15	7	0	
+	228	114	22	
+/-	0	79	0	
-	0	45	0	
En %				61

Pour IgM : 79 résultats douteux
45 résultats négatifs

6.4.2. Distribution des résultats pour l'échantillon S/1365

Résultat	IgG N=243	IgM N=245	IgA N=22	IgG avidité N=61
Sans	15	8	0	
+	228	123	22	
+/-	0	72	0	
-	0	42	0	
En %				61

Pour IgM : 72 résultats douteux
42 résultats négatifs

6.4.3. Pour l'analyse des IgM, des résultats douteux et négatifs ont été obtenus avec les réactifs suivants :

Fabriquant	Réactif IgM	nbre	S/1364		S/1365	
			+/-	-	+/-	-
Abbott	Toxo IgM	41	21	7	16	6
	Toxo MEIA	65	28	16	31	12
	Non spécifié	5	3		3	
bioMérieux	ToxoIgM	63	2		2	
	ToxoIgM-IFA	2	1	1	1	1
	Toxo -spot IF	6	4	2	4	2
	Toxoplasma IgM capture	4				
	Toxo ISAGA	1				
	Non spécifié	3				
Beckman	Access Toxo IgM	16	2	13	2	13
Sorin	ETI-ToxoK-M plus	17	12	2	9	3
	Toxo IgM	1	1		1	
DadeBehring	Toxo IgM-EIA	1	1		1	
	Toxoplasmose IgM	1		1		1
	autre	1				
DPC	Toxo IgM	2		1		2
Pacia	Toxo IgM	1	1			1
Roche	Toxo IgM rec cobas core	3				
Organon	Toxonostika IgM	1		1		1
Biorad	New Platelia Toxo IgM	4	1			
Home made		1	1		1	
autre	autre	2	1	1	1	1

nbre : nombre

6.4.4. Représentation des interprétations

Quelques laboratoires ont répondu plus qu'une interprétation

Interprétation (N)	Aucune remarque	Tests complémentaires	Nouveau prélèvement > 3 semaines	Une confirmation n'est pas nécessaire
aucune (13)	4	5	2	2
Infection récente (33)	1	20	6	6
Infection ancienne (151)	12	40	9	90
Séroconversion (9)		3	2	4
Autres (49)	8	28	8	5

Parmi les 90 laboratoires qui ont interprété correctement les échantillons c.à.d infection ancienne >3 mois et une confirmation n'est pas nécessaire, 47 laboratoires ont testé l'IgG avidité. Les dosages d'IgA et de d'IgG avidité ont été proposés comme tests de confirmation ou tests complémentaires.

6.5. Commentaires

L'information clinique jointe aux deux échantillons, spécifie qu'il s'agissait de sérums d'une femme enceinte pris à 10 et 14 semaines de gestation pour le dosage des anticorps contre la toxoplasmose. On demandait d'interpréter les résultats de ces deux échantillons : est-ce que la sérologie suggère un contact ancien (avant la grossesse) ou une infection récente (durant la grossesse) ou est-ce que la patiente n'a pas d'immunité (pas d'anticorps).

Les deux échantillons contiennent un titre d'IgG élevé et non évolutif ainsi qu'une valeur peu élevée d'anticorps IgM. Le haut titre d'IgG et la valeur peu élevée d'IgM indiquent ici une infection datant de plus de trois mois.

Les IgM sont les premiers anticorps qui apparaissent à la suite d'une toxoplasmose acquise. Ils apparaissent à partir de quelques jours jusqu'à quinze jours après l'infection et atteignent leur pic à partir de quelques semaines jusqu'à deux mois après l'infection. Après le pic, le taux d'anticorps diminue progressivement avant de disparaître. Selon la technique utilisée par le laboratoire, la diminution peut durer plus ou moins longtemps. En général, le taux d'anticorps IgM détecté par immunofluorescence diminue plus rapidement que celui d'anticorps IgM détectés par EIA. Dans certains cas, les anticorps IgM persistent plusieurs années après l'infection aiguë. La présence d'anticorps IgM ne signifie donc pas forcément que l'infection soit récente.

Les 2 échantillons envoyés contenaient des faibles titres d'IgM. Ces IgM n'ont pas été retrouvés par tous les laboratoires. Ceci n'est pas du tout dû à une déficience aux niveaux des trousse : les valeurs retrouvées se situent tous dans les environs de la limite de détection. Il n'est pas très utile d'utiliser un test IgM qui est positif jusqu'à 2 ans après l'infection aiguë. Le fait de ne pas avoir trouvé des anticorps IgM, n'a pas été considéré comme erroné. Vu la longue persistance d'anticorps IgM après une infection aiguë, il est conseillé d'effectuer un dosage quantitatif (dosage du titre) ou semi-quantitatif (faible positif, positif, fort positif) des IgM.

Les IgG apparaissent après les IgM. Selon la technique appliquée ils atteignent leur pic deux à six mois après la survenue de l'infection. Les anticorps IgG dosés par technique d'immunofluorescence augmentent plus vite et atteignent leur pic plus rapidement que les anticorps IgG dosés par technique EIA. Les anticorps IgG restent positifs à vie et sont l'expression de l'immunité du patient pour *Toxoplasma gondii*.

Il n'est pas inhabituel pour un patient d'avoir un titre élevé d'IgG quelques années après l'infection aiguë. Ceci ne signifie pas qu'il s'agit d'une évolution anormale de l'infection qui requiert de nouvelles analyses.

Lorsqu'on observe des anticorps IgG et IgM sur l'échantillon initial, il faudra dans la plupart des cas analyser d'autres échantillons. Souvent, il faudra prendre un deuxième et même un troisième échantillon sanguin afin d'observer une évolution de la sérologie. Dans le cas d'un titre élevé d'IgG dans le premier échantillon, il est peu probable que dans le deuxième

échantillon on observe une augmentation significative d'IgG puisqu'on se trouve dans une phase de plateau. Chez ces patients, il peut être intéressant d'effectuer d'autres tests sérologiques sur les mêmes échantillons (ex. autre technique IgM et IgG, anticorps fixant le complément, détermination d'IgA, avidité des IgG etc.). La combinaison de ces différentes techniques donnera dans la plupart des cas une réponse quant à la datation de l'infection.

Tous les laboratoires ont détecté des titres IgG élevés. Les résultats des titres IgG varient fort d'un laboratoire à l'autre. Les valeurs varient également entre les utilisateurs des même trousse : (ex de 221 UI à 1949 UI pour le même échantillon). Une hausse d'IgG dans des échantillons successifs doit toujours être interprété avec précaution. Pour mettre une hausse en évidence il faut analyser les échantillons avec la même technique au même moment. Les titres IgG ne sont pas comparables entre différents laboratoires.

Les anticorps IgA apparaissent après les anticorps IgM et disparaissent plus vite que les anticorps IgM. Étant donné qu'il y a également des patients chez qui les anticorps IgA persistent après une infection aiguë, trouver des anticorps IgA n'est pas en soi une preuve d'infection récente. Ceci est clairement illustré par la présence persistante d'anticorps IgA dans les deux échantillons qui ont été envoyés.

L'avidité des IgG peut également être un moyen pour dater une infection par toxoplasme. Une avidité élevée signifie dans la plupart des cas une ancienne infection, tandis qu'une avidité basse indique une infection récente.

Les laboratoires qui ont effectué le test d'avidité des IgG ont tous retrouvé un pourcentage élevé ce qui suggère une infection ancienne.

Lors de l'interprétation d'une sérologie de toxoplasmose, il faudra toujours tenir compte de l'image globale du profil et il ne faudra jamais se laisser guider par la présence ou l'absence d'un seul paramètre (IgM, IgA ou avidité des IgG).

Il ne faudra pas non plus oublier que chaque patient peut, du point de vue immunologique, réagir différemment et que les meilleures techniques effectuées par les laboratoires les plus performants ne peuvent permettre une interprétation correcte dans certains cas particuliers et rares.

Pour l'interprétation les choix suivants étaient proposés ; séronégatif pour les 2 échantillons, infection récente (moins de 3 mois) ; infection ancienne (plus de 3 mois), séroconversion et autres

La réponse correcte était : infection ancienne (>3mois)

Seulement 90 (36 %) laboratoires sur les 250 ont correctement interprété les 2 échantillons.

Réponses incertaines: 49 laboratoires ont donné d'autres interprétations que celles proposées comme par exemple 'infection récente de plus de 4 mois', 'séroconversion éventuelle', 'infection assez récente'.

Ces laboratoires se compliquent inutilement la vie car généralement leur interprétation pouvait se classer dans une des réponses proposées.

Les réponses incorrectes : infection récente 33 laboratoires (13,2 %), séroconversion 9 laboratoires (3,6 %), pas d'interprétation 7 laboratoires (2,8 %).

Il est surprenant que 9 laboratoires aient répondu séroconversion. Séroconversion signifie une absence d'anticorps dans le premier échantillon et une apparition d'anticorps dans le deuxième.

L'absence d'une interprétation est considérée comme erronée.

A. Naessens (UZ VUB-Jette)