

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Parasitologie**

**15PAR1**

**septembre 2015**

**Frottis sanguin et apposition de rate  
Sérologie de la toxoplasmose  
Sérologie du paludisme**

**septembre 2016**

Muriel FROMAGE (Ansm)  
Guy GALEAZZI (Nanterre)

Expédition : 16 septembre 2015

Clôture : 12 octobre 2015

Edition des compte-rendus individuels : 26 novembre 2015

Paramètres contrôlés :

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

**Apposition de rate** : *Leishmania sp.* (*Leishmania donovani*, *L. infantum*)

**Sérologie de la toxoplasmose**

**Sérologie du paludisme**

Nombre de laboratoires concernés\* : 1056

Nombre de laboratoires participants\*\* : 1044

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

\*\* Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur le site de l'ANSM avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération

A l'occasion de cette opération de contrôle, deux frottis de paludisme ont été proposés. L'un parasité par *P. ovale* a conduit à 50% de diagnostic « *P. ovale* » et 50% de diagnostic « *P. vivax* ». La confusion entre ces deux espèces est habituelle, mais n'a jamais été rencontrée dans de telles proportions dans le cadre du CNQ (au maximum 20% de réponses « *P. vivax* » pour un frottis contenant « *P. ovale* »). L'échantillon sanguin ayant servi à la fabrication des frottis n'étant plus disponible, l'identification moléculaire qui aurait permis de trancher entre les deux espèces n'a pas pu être réalisée.

Le deuxième frottis, un accès simple de paludisme à *Plasmodium falciparum* avec 0,4% d'hématies parasitées ne comportait que des trophozoïtes. On note 89,9% de diagnostic exact d'espèce. Ce résultat est inférieur à celui de 2010 (94,5%) qui est le meilleur score obtenu à ce jour pour ce type de frottis.

Par ailleurs, le frottis d'un cas d'importation d'une filariose mixte à *Loa loa* et *Mansonella perstans* a également été proposé. Les résultats obtenus pour ce quatrième envoi d'un frottis bi-parasité par *Loa loa* et *M. perstans* sont bons et, pour l'espèce *Loa loa* diagnostiquée par plus de huit LBM sur dix, très voisins de ceux obtenus lors de l'envoi précédent en 2005.

Enfin, une apposition de rate, riche en forme amastigote de *Leishmania sp.* a également été proposée pour la 3<sup>ème</sup> fois dans le cadre du CNQ. De nombreux biologistes ont signalé que ce type de prélèvement n'était pas traité dans les LBM, mais dans les laboratoires d'anatomie-cytopathologie. Par conséquent, seuls trois quarts des participants ont rendu un diagnostic. La leishmaniose est endémique dans les pays du bassin Méditerranéen et on compte une vingtaine de cas autochtones par an, le long de la côte Méditerranéenne en France, auxquels il faut ajouter plus de 80 cas importés.

En ce qui concerne la sérologie de la toxoplasmose, chacun des 944 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme a reçu deux échantillons (IgG positifs/IgM négatifs) à tester. De façon récurrente, on note une dispersion importante des titres moyens obtenus en IgG pour les différents réactifs immunoenzymatiques.

Enfin, trente et un LBM, en majorité hospitaliers, ont testé un échantillon destiné au sérodiagnostic du paludisme. L'échantillon, fortement positif, a été diagnostiqué comme tel par l'ensemble des participants à l'exception d'un seul. Il s'agit vraisemblablement d'une erreur d'échantillon.

# Frottis sanguin

## 1 - Echantillon BOLARD ou RANNOU

### Définition de l'échantillon

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

Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium falciparum*

Stade : Trophozoïtes

Richesse du frottis : 0,4% hématies parasitées en moyenne

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un Français ayant séjourné un mois en Côte d'Ivoire et présentant un épisode fébrile 5 jours après son retour en France. La chimioprophylaxie anti-palustre a été irrégulièrement suivie.

### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 264 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau I.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des six envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. falciparum* au stade trophozoïte avec une parasitémie inférieure ou égale à 1% sont rapportés dans le tableau II.

**tableau I** - Ensemble des réponses des 264 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. falciparum</i>	99,6	87,9 (soit 89,9% des 258 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Schizontes jeunes		1,3	
Schizontes âgés		1,3	
Gamétocytes		1,7	
divers/non précisés	<i>P. ovale</i>		9,5
divers/non précisés	<i>P. vivax</i>		1,9
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0,4
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0,4
ABSENCE DE PARASITE			0
EXAMEN TRANSMIS			2,2

**tableau II** - Bilan des sept opérations de contrôle « trophozoïtes *P. falciparum* » ( $\leq$  1% hématies parasitées)

Année	Nombre de participants	% d'hématies parasitées	% de réponses « <i>P. falciparum</i> »	% Plasmodium autres espèces	% de réponses « absence de parasite »	% « transmis » ou absence de réponse
2015	264	0,4	87,9	11,8	0	2,2
2012	536	0,2	77,2	15,2	0,2	7,3
2010	1144	0,6	85,4	7,6	< 0,1	9,6
2005	1252	0,3	67,4	31,5	0	2,3
2002	1326	1	70,7	27,7	0	2,7
2000	1301	0,1	80,9	15,2	2,2	1,4
1999	1316	0,5	57,5	41,9	0,2	1,8

## Commentaires

Les frottis « Rannou » et « Bolard » correspondent à un accès simple de paludisme à *P. falciparum* et comportent 0,4% d'hématies parasitées par des trophozoïtes. La totalité des participants ayant réalisé la lecture des frottis a bien posé le diagnostic de paludisme : aucun laboratoire n'a répondu « absence de parasite », ni n'a identifié un autre parasite que Plasmodium. En revanche, seuls 89,9% ont correctement identifié l'espèce *P. falciparum*. Ce résultat est inférieur à celui de 2010 (94,5%) qui est le meilleur score obtenu à ce jour pour ce type de frottis. Toutefois, en pratique, dans la majorité des laboratoires, le diagnostic biologique du paludisme associe actuellement le frottis et la goutte épaisse à la détection de l'antigénémie par une technique rapide immuno-chromatographique qui permet de confirmer ou réorienter le diagnostic vers *P. falciparum* (présence de l'antigène HPR2 spécifique de l'espèce).

L'examen des frottis permet l'observation rapide (environ une hématie parasitée tous les deux champs) d'hématozoaires intracellulaires tout à fait typiques.

Les hématies parasitées sont de taille, de forme et de couleur normales. Il n'y a ni taches de colorants, ni organites intra-érythrocytaires susceptibles de prêter à confusion.

Le diagnostic de *P. falciparum* se fait aisément sur l'aspect monotone du frottis (trophozoïtes avec un aspect typique en bague à chaton). Selon les experts, sur les « frottis tests » vus avant l'envoi aux laboratoires, il n'y a pas de schizontes, ni de gamétocytes (seuls 4 participants sur 258 ont signalé la présence d'un gamétocyte), ni de pigment malarique.

## 2 - Echantillon NJINGO ou ABOUTO

### Définition de l'échantillon

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

Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOIN (Gonesse), Dr M. THELLIER (Paris) est le suivant :

Nom du parasite : *Plasmodium ovale*

Stade : Trophozoïtes + schizontes (rares) + gamétocytes (rares)

Richesse du frottis : 0,7% hématies parasitées en moyenne.

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : recherche de parasites sanguins chez un réfugié originaire du Soudan, venant d'arriver en France et présentant une fièvre.

### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 242 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau III.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des six envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *P. ovale* aux stades trophozoïtes et gamétocytes (rares) sont rapportés dans le tableau IV.

tableau III - Ensemble des réponses des 242 laboratoires participants

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèce
Trophozoïtes	<i>P. ovale</i>	99,1	48,3% (soit 50,9% des 230 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
Schizontes jeunes		26,5	
Schizontes âgés		26,5	
Gamétocytes		31,6	
Trophozoïtes	<i>P. vivax</i>	93,6	45,4
Schizontes jeunes		27,3	
Schizontes âgés		24,5	
Gamétocytes		32,7	
divers/non précisés		0,9	

divers/non précisés	<i>P. falciparum</i>		2,1
divers/non précisés	<i>P. malariae</i>		0
Trophozoïtes	<i>Plasmodium sp.</i>		0
ABSENCE DE PARASITE			0
EXAMEN TRANSMIS			5,0

**tableau IV** - Bilan des sept opérations de contrôle « *Plasmodium ovale* » : trophozoïtes + gamétocytes.

Année	Nombre de participants	% d'hématies parasitées	% de réponses « <i>P. ovale</i> »	% de réponses « <i>P. vivax</i> »	% de réponses « <i>P. falciparum</i> »	% « transmis » ou absence de réponse
2015	242	0,7	48,3	45,4	2,1	5,0
2014	301	0,3	87,0	4,3	3,0	5,3
2012	531	0,7	72,5	17,3	5,3	5,5
2010	1126	0,14	74,2	7,2	5,8	10,4
2005	1260	0,5	77,0	19,4	1,2	2,5
2002	1328	0,4	81,8	12,3	3,7	1,9
1996	1272	0,3	72,6	21,6	2,0	1,7

## Commentaires

Les frottis « Njinga » et « Abouto » correspondent probablement à un accès de reviviscence à *P. ovale*. On observe des hématies de grande taille parfois ovalaires ou échinulées (plus que frangées) et la présence de granulations de Schüffner dans le cytoplasme. Le frottis est assez monotone avec des trophozoïtes âgés compacts, de rares gamétocytes et d'exceptionnels schizontes matures, notamment dans les franges en queue de frottis.

La présence d'un seul stade de développement parasitaire (trophozoïtes) ou presque signe un développement synchrone du parasite fréquemment rencontré dans les accès de reviviscence (développement à partir d'un hypnozoïte).

Par ailleurs, les parasites sont peu chargés en hémozoïne et il n'y a pas de corps amiboïde. L'absence de corps amiboïde oriente plus vers *P. ovale* que *P. vivax*, de même que la non-abondance de l'hémozoïne. Toutefois, certains aspects morphologiques des parasites observés avec des formes altérées peuvent perturber et rendre le diagnostic d'espèce difficile.

Les réponses des 242 laboratoires participants qui ont reçu ce frottis sont les suivantes :

117 *P. ovale*, 109 *P. vivax*, 5 *P. falciparum* et 11 « examen transmis ». Ces résultats inhabituels pour un frottis parasité par *P. ovale* envoyé dans le cadre du CNQ (le pourcentage de diagnostics « *P. vivax* » n'a jamais dépassé 20 %) nous a conduit à faire relire les lames par les deux laboratoires de parasitologie du CNR paludisme (CHU Bichat et CHU Pitié-Salpêtrière) qui ont confirmé l'espèce *P. ovale*. Toutefois, il semblerait que la distinction entre les deux espèces soit parfois difficile. L'échantillon sanguin de départ n'étant plus disponible, l'identification moléculaire qui aurait permis de trancher entre les deux espèces n'a pas pu être réalisée.

Par ailleurs, les renseignements cliniques qui accompagnaient l'échantillon « ...réfugié originaire du Soudan venant d'arriver en France... » ont pu induire en erreur les participants, puisqu'au Soudan les cas de paludisme sont dus à *P. falciparum* dans 95% des cas et à *P. vivax* pour les 5% restant.

Au vu de toutes ces données, nous avons comme choix, soit de ne pas évaluer les réponses des laboratoires participants pour ce frottis, soit d'évaluer « A » les deux diagnostics *P. ovale* et *P. vivax*. Nous avons choisi cette deuxième option sachant que la confusion entre ces deux espèces est sans influence sur la prise en charge du patient.

### 3 - Echantillon MOUKOU ou ETONGO

#### Définition de l'échantillon

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

Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Loa loa* + *Mansonella perstans*

Stade : Microfilaires

Richesse du frottis : 3 à 6 *Loa loa* et au moins une *M. perstans* par frottis

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Recherche de parasites sanguins dans le cadre du bilan étiologique d'une hyper-éosinophilie sanguine chez une patiente vivant en Centrafrique, en France depuis un mois.

#### Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 257 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau V.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des trois envois précédents d'un frottis sanguin parasité par *Loa loa* et *M. perstans* sont rapportés dans le tableau VI.

**tableau V** - Ensemble des réponses des 257 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics de stade	% diagnostics d'espèces
Microfilaire	<i>Loa loa</i>	92,6	83,7 soit 84,6% des 254 laboratoires ayant rendu un diagnostic
Larve		5,1	
Adulte		1,9	
divers/non précisés		0,4	
Microfilaire	<i>Mansonella perstans</i>	8,9	17,5 soit 17,7% des 254 laboratoires ayant rendu un diagnostic
divers/non précisés		0,8	
divers/non précisés	<i>Onchocerca volvulus</i>		1,1
divers/non précisés	<i>Wuchereria bancrofti</i>		0,8
divers/non précisés	<i>Mansonella ozzardi</i>		0,8
Microfilaire	Espèce non précisée		0,4
Plasmodium divers			1,9
Autres parasites			0,8
ABSENCE DE PARASITE			1,9
EXAMEN TRANSMIS			1,1

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

Année de l'envoi	Nombre de laboratoires participants	Richesse du frottis en <i>Loa loa</i> *	% de laboratoires ayant répondu :			
			« <i>Loa loa</i> »	« <i>M. perstans</i> »	microfilaires autres espèces	« absence de parasite »
2015	257	3 - 6	83,7	17,5	2,7	1,9
2005	1280	3 - 17	84,8	9,7	1,2	0,9
2000	1283	1 - 20	78,6	19,9	3,7	1,1
1984	1134	1 - 20	78,6	14,4	2,0	2,8

\*: nombre moyen de microfilaires par frottis

## Commentaires

Les filarioses largement répandues dans les régions tropicales sont des nématodoses transmises par des arthropodes hématophages. Les cas décrits en France correspondent uniquement à des cas d'importation.

On distingue les filaires pathogènes : *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *B. timori* (filarioses lymphatiques), *Onchocerca volvulus* (onchocercose), *Loa loa* (filariose cutanéodermique ou loase) et les filaires peu ou pas pathogènes : *Mansonella perstans*, *M. streptocerca*, *M. ozzardi*, *M. rodhaini*.

Seules *W. bancrofti*, *B. malayi*, *B. timori*, *Loa loa*, *M. perstans* et *M. ozzardi* libèrent leurs microfilaires dans le sang.

La loase sévit uniquement en Afrique de l'ouest et centrale (en particulier dans les zones forestières) : République Centrafricaine, République démocratique du Congo, République du Congo-Brazzaville, Nigéria, Cameroun, Gabon, Angola. Elle se manifeste par un œdème des extrémités prurigineux, fugace, migrateur (œdème de Calabar) associé au passage des filaires adultes (3 à 5 cm de long) sous la peau et parfois sous la conjonctive. Les complications cardiaques ou rénales existent mais sont peu fréquentes.

Les filaires femelles libèrent des microfilaires dans la journée. On parle de périodicité diurne de la microfilarémie, d'où la nécessité dans le cas du diagnostic de loase, de réaliser un prélèvement sanguin autour de midi. L'EDTA ou le citrate utilisés comme anticoagulants permettent de garder les microfilaires vivantes plusieurs jours. L'identification des microfilaires est effectuée sur un frottis sanguin coloré au MGG. Des techniques de concentration peuvent être utilisées pour sensibiliser l'analyse et permettre une numération des microfilaires.

Les microfilaires de *Loa loa* se caractérisent par leur grande taille (250-300 µm), leur gaine vue par transparence car difficilement colorée par le MGG, leur extrémité postérieure remarquable par son noyau terminal allongé (dernier noyau somatique au contact de l'extrémité postérieure de la cuticule). L'espace céphalique est court (longueur inférieure à la largeur de la larve). Les noyaux somatiques : gros, serrés, se chevauchent, rendant peu visible le corps interne. Si la coloration au MGG est réalisée à pH 7,2, le corps interne est plus facilement coloré, en violet foncé, sous forme d'une masse unique allongée d'environ 30 µm. Mais il peut aussi être réduit à des masses granuleuses plus ou moins nombreuses, difficilement distinguables des noyaux somatiques.

*Mansonella perstans* est présente en Afrique (où sa répartition recoupe celle de *Loa loa*) et en Amérique du Sud. Les microfilaires sont plus petites que *Loa loa* (180-200 µm) et ne présentent pas de gaine. Les noyaux somatiques sont petits, irréguliers et le dernier noyau à l'extrémité postérieure est arrondi donnant un aspect caractéristique dit « en doigt de gant ». Le corps interne n'est pas visible.

Les confusions sont fréquentes avec les microfilaires de *Loa loa* : notamment en raison de la non coloration de la gaine chez *Loa loa*, induisant le biologiste en erreur parce qu'il pense observer une microfilaire dépourvue de gaine. Toutefois la différence de taille et les caractéristiques des extrémités postérieures doivent faire ôter le doute, sachant que ces deux microfilaires peuvent coexister sur un même frottis sanguin en raison d'une répartition géographique similaire en Afrique.

La sensibilité de cette filaire peu pathogène (prurit, céphalées modérées) aux antifilariens usuels est inconstante. Par conséquent, en cas de bi-parasitisme avec une filaire pathogène, la persistance des microfilaires de *M. perstans* dans le sang après traitement n'est pas un échec thérapeutique.

Les résultats obtenus pour ce quatrième envoi d'un frottis bi-parasité par *Loa loa* et *M. perstans* sont bons et très voisins de ceux obtenus lors de l'envoi précédent en 2005 pour l'espèce *Loa loa* diagnostiquée par plus de huit LBM sur dix. De plus, presque un LBM sur 2 a aussi reconnu, en plus de *Loa loa*, au moins une microfilaire *M. perstans* plus petite et plus rare sur ce frottis.

## 4 - Echantillon IDRIS ou LOUNI

### Définition de l'échantillon

Il s'agit d'une apposition de rate de hamster colorée au MGG.

Le diagnostic des experts Dr G. GALEAZZI (Nanterre), Dr F. ARDOIN (Gonesse) est le suivant :

Nom du parasite : *Leishmania* sp. (*Leishmania donovani infantum*)

Stade : amastigote

Richesse de l'apposition : 5 à 6 champs en moyenne au X100 pour trouver un parasite

Les renseignements cliniques qui accompagnent l'échantillon sont les suivants : Recherche de parasites dans une biopsie splénique post-mortem chez un patient maghrébin décédé du SIDA dans un tableau d'hépatosplénomégalie fébrile associée à une pancytopenie.

## Résultats des participants

L'ensemble des réponses transmises par les 227 laboratoires participants (1 à 3 réponses par laboratoire) ainsi que leur pourcentage respectif sont rassemblés dans le tableau VII.

Pour rappel, les pourcentages des différentes réponses obtenus lors des deux envois précédents en 1993 et 1995, d'une apposition de rate parasitée par *Leishmania sp.* sont rapportés dans le tableau VIII. Les réponses obtenues lors de l'envoi en 1999 à l'ensemble des laboratoires, à titre pédagogique, d'un frottis de rate (forme amastigote du parasite) accompagné d'un frottis de culture sur milieu NNN du même prélèvement de rate (forme promastigote du parasite) ne sont pas rapportés car l'évocation du milieu NNN conduisant d'emblée au diagnostic de *Leishmania*, ces résultats sont « biaisés » et ne correspondent pas à une évaluation externe de la qualité.

**tableau VII** - Ensemble des réponses des 227 laboratoires participants.

STADE	NOM	% diagnostics d'espèce
divers/non précisés	<i>Leishmania sp.</i>	69,1 (soit 90,2% des 174 laboratoires ayant rendu un diagnostic)
divers/non précisés	<i>Toxoplasma gondii</i>	2,2
divers/non précisés	<i>Pneumocystis carinii</i>	1,8
Autres parasites		1,8
ABSENCE DE PARASITE		1,8
EXAMEN TRANSMIS ou PAS DE REPONSE		23,3

**tableau VIII** - Bilan des trois opérations de contrôle « *Leishmania* » (forme amastigote)

Année	Nombre de participants	Richesse de l'apposition *	% de réponses « <i>Leishmania</i> »	% de réponses « <i>T. gondii</i> »	% de réponses « <i>P. carinii</i> »	% de réponse « absence de parasite »	% « transmis » ou absence de réponse
2015	227	5 à 6	69,1	2,2	1,8	1,8	23,3
1995	1182	1 à 10	55,6	3,8	1,9	8,0	29,0
1993	1034	+ à +++	71,0	6,1	2,1	NP	16,8

\* : nombre de champs au X100 pour trouver un parasite

## Commentaires

Sur les 235 LBM ayant reçu l'apposition de rate, 227 ont répondu. Parmi eux, 53 n'ont pas rendu de diagnostic (50% ont précisé ne pas réaliser ce type d'analyse dans leur laboratoire). Parmi les 174 LBM ayant réalisé un diagnostic, dix ont signalé ne pas faire cette analyse (quatre d'entre eux ont par ailleurs rendu un diagnostic erroné : absence de parasite ou *P. carinii*).

La leishmaniose est une infection due à un parasite protozoaire du genre *Leishmania* (plus de 20 espèces différentes) transmis par piqure de phlébotomes femelles infectés. Chez l'homme, trois présentations cliniques sont observées : la leishmaniose viscérale (LV) mortelle en l'absence de traitement, les leishmanioses cutanées (LC) les plus fréquentes et les leishmanioses cutanéomuqueuses.

On distingue deux formes du parasite : la forme flagellée (promastigote) retrouvée dans le tube digestif de la femelle phlébotome où elle se multiplie et la forme amastigote (absence de flagelle) dans les macrophages de l'hôte (Homme ou autre mammifère réceptif).

Selon l'OMS, la maladie est endémique dans 98 pays en zones tropicales et subtropicales, exposant 350 millions de personnes. On estime qu'il y a chaque année 1,5 million de nouveaux cas dont 200 000 à 400 000 de LV et entre 20 000 et 30 000 décès dus à la LV. Six pays recensent 90% des LV : Inde, Bangladesh, Brésil, Ethiopie, Soudan et Soudan du Sud.

En Europe, la leishmaniose est endémique dans tous les pays du Bassin Méditerranéen. En France, la surveillance des cas humains de leishmaniose basée sur la notification volontaire des cas est assurée depuis 1998 par le CNR.

La leishmaniose est endémique dans le sud de la France tout le long de la côte de la frontière espagnole à la frontière italienne : Pyrénées orientales, Hérault, Gard, Bouches du Rhône, Var, Alpes Maritimes, Corse... Les cas autochtones (nombre moyen : 22,6 par an) sont principalement des leishmanioses viscérales (84,5%) dues à *Leishmania infantum* et les chiens constituent le réservoir principal (prévalence 3 à 66% selon la région). L'analyse de tous les cas notifiés de leishmaniose viscérale entre 1999 et 2012 montre une association fréquente (44%) avec un terrain immuno-déprimé : VIH+ (un tiers des cas), traitement immunosuppresseur, greffe de moelle ou d'organe.

Les cas importés, plus nombreux (moyenne : 82,4 par an) sont essentiellement des leishmanioses cutanées (91%) et ont pour origine l'Afrique du Nord, l'Afrique sub-saharienne et la Guyane française. Par ailleurs, il est maintenant admis que dans les régions endémiques, la fréquence des porteurs asymptomatiques est élevée.

Le cas clinique qui accompagnait la lame du CNQ était typique d'une leishmaniose viscérale. Dans ce cas, les éléments d'orientation non spécifiques concernant le diagnostic biologique sont :

- des anomalies de la NFS : anémie normochrome normocytaire, neutro-leucopénie et thrombopénie qui s'aggravent avec l'évolution de la maladie et l'augmentation du volume de la rate.
- un syndrome inflammatoire (VS et CRP augmentées) avec une hypoalbuminémie et hypergammaglobulinémie à IgG.

Le diagnostic de certitude repose sur la mise en évidence du parasite dans un prélèvement de moelle osseuse (gold standard) ou de ganglions superficiels. La ponction de rate n'est pas conseillée étant donné le risque hémorragique.

Chez les patients immunodéprimés, la recherche peut se faire sur sang périphérique (recueil sur citrate) après leucoconcentration (les leishmanies sont présentes dans les monocytes mais aussi parfois dans les polynucléaires neutrophiles).

Après coloration au MGG, on observe à l'examen microscopique (X100) les formes amastigotes ovalaires (2,5 µm de large sur 5 µm de long) intra-cellulaires en amas ou parfois libres. Le contour de la cellule est peu marqué et le cytoplasme bleu pâle renferme deux structures juxtaposées colorées en rouge violacé : le noyau et le kinétoplaste. Le noyau arrondi occupe le tiers de la surface et le kinétoplaste est un bâtonnet disposé perpendiculairement au noyau. Il est souvent vu sous la forme d'un point. Ces critères morphologiques font que les leishmanies ne devraient pas être confondues avec d'autres parasites ou champignons (toxoplasmes, *Pneumocystis*, histoplasmes, levures).

Des techniques plus sophistiquées peuvent être utilisées pour rechercher le parasite : la RT-PCR permet de mettre en évidence l'ADN du parasite dans les prélèvements de moelle osseuse ou de sang. Cette technique est également utilisée dans le suivi thérapeutique par quantification de la charge parasitaire.

La culture sur milieu NNN additionné de sang de lapin permet l'isolement du parasite sous forme promastigote. L'identification de l'espèce est alors réalisée par biologie moléculaire (séquençage *hsp70* et MLST) ou plus récemment par spectrométrie de masse Maldi Tof.

Enfin, le diagnostic sérologique (ELISA, western blot) est performant chez les patients immunocompétents.

## Bibliographie

(1) Gay E., Guégan H, Ameline M., Gangneux J-P. Les leishmanioses humaines : parasitoses importées et autochtones. Rev. Fra. Lab., 2015, 477 : 61-65

(2) Lachaud L, Dedet JP, Marty P, Faraut F, Buffet P, Gangneux JP, Ravel C, Bastien P, the Working Group for the Notification of Human Leishmanioses in France. Surveillance of leishmaniasis in France, 1999 to 2012. Euro Surveill. 2013;18(29):pii=20534.

Disponible sur <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20534>

# Sérologie de la toxoplasmose

## Définition des échantillons

Deux échantillons différents ont été adressés à chacun des 944 laboratoires ayant déclaré pratiquer le titrage des IgG et/ou la recherche des IgM anti-toxoplasme.

Les échantillons lyophilisés préparés à partir de deux pools de plasmas défibrinés sont définis de la façon suivante :

N° échantillon	IgG anti-toxoplasme	IgM anti-toxoplasme
1501 - 1502 - 1505 - 1506	présence	absence
1503 - 1504 - 1507 - 1508	présence	absence

## 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 écarts-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écarts-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  $100 \times sTr / mTr$ .

## Résultats des participants

### 1 - Titrage des IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne le titrage des IgG anti-toxoplasme, 876 laboratoires ont rendu un résultat, soit avec un réactif (78,1%), soit avec deux réactifs (21,9%).

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

Pour chacun des deux échantillons qui contenaient des IgG anti-toxoplasme, les résultats des titrages IgG ainsi que les conclusions données par les laboratoires en fonction de la technique utilisée sont rassemblés dans les tableaux X et XI.

Enfin, la dispersion des titres obtenus avec les réactifs immunoenzymatiques pour les deux échantillons positifs de cette opération de contrôle est soulignée dans le tableau XII.

tableau IX - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<b>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE) :</b>	<b>998 (93,4%)</b>
ROCHE "Elecsys/modular Toxo G "	277
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	210
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	172
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	113
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	84
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	39
DIASORIN "Liaison XL Toxo IgG "	31
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	23
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	15
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	12
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	12
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmose IgG"	5
DIASORIN "Liaison Toxo IgG "	3
SIEMENS "Immulite toxoplasmose G"	2

<b>LATEX :</b>	<b>48 (4,5%)</b>
FUMOUCHE "Toxolax"	31
BIORAD "Pastorex Toxo"	15
SERVIBIO "Servitex Toxo"	1
BIOKIT "Toxocell latex"	1
<b>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.) :</b>	<b>3 (0,3%)</b>
FUMOUCHE "Toxo-HAI"	
<b>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI) :</b>	<b>7 (0,7%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	
<b>AGGLUTINATION SENSIBILISEE (Aggl. sens.) :</b>	<b>7 (0,7%)</b>
BIOMERIEUX "Toxo screen DA"	
<b>CYTOMETRIE DE FLUX :</b>	
BIORAD "Bioplex ToRC IgG"	1 (0,1%)
<b>REACTIFS AUTRES :</b>	<b>4 (0,4%)</b>
Total	1068 (100%)

**tableau X** - Echantillons 1501 - 1502 - 1505 - 1506

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Aggl.sens.	Hémaggl.	autres	Total
Positif	996	46	7	7	3	4	1063
Limite	3	1					4
Négatif		1					1
Total	999	48	7	7	3	4	1068

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
ROCHE "ElecSys/Modular Toxo G"	277	262	166,6	4,8	2,9
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	210	200	19,5	1,1	5,8
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	172	167	16,3	1,7	10,3
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	113	107	32,5	1,2	3,6
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	84	79	26,3	2,5	9,4
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	39	37	24,7	3,0	12,2
DIASORIN "Liaison XL Toxo IgG "	31	29	17,8	2,7	15,1
SIEMENS "Immunité 2000 toxoplasme G"	23	22	14,6	1,0	6,9
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	15	15	23,7	2,9	12,2
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	12	11	36,8	4,6	12,4
Tous réactifs confondus	En raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.				

**tableau XI** - Echantillons 1503 - 1504 - 1507 - 1508

Conclusions en fonction de la technique utilisée :

Technique / conclusion	IE	latex	IFI	Aggl.sens.	Hémaggl.	autres	Total
Positif	991	48	7	7	3	4	1060
Négatif	1						1
Total	992	48	7	7	3	4	1061

Technique immunoenzymatique : titres obtenus en fonction du réactif utilisé :

	n	nTr	mTr	s Tr	CV Tr (%)
ROCHE "Elecsys/Modular Toxo G"	277	263	262,8	7,7	2,9
ABBOTT "Architect Toxo IgG"	209	205	11,7	0,7	5,8
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgG"	170	165	32,2	3,6	11,1
SIEMENS "ToxoG/ADVIA Centaur"	110	106	54,4	1,9	3,5
BECKMAN "DXI Toxo IgG"	79	74	43,5	4,1	9,5
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgG"	42	41	43,3	5,2	12,1
DIASORIN "Liaison XL Toxo IgG "	31	30	30,7	4,5	14,6
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose G"	25	23	33,1	2,2	6,6
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgG"	15	14	47,3	5,1	10,8
BIORAD "Platelia Toxo IgG"	12	12	61,4	13,9	22,7
Tous réactifs confondus	En raison de la dispersion des moyennes par réactif, la moyenne tous réactifs confondus ne peut être utilisée comme valeur cible de consensus.				

**tableau XII** - Technique immunoenzymatique : dispersion des titres en IgG des deux échantillons positifs

Echantillons	Titre (UI/mL)			le plus élevé/ le plus faible
	tous réactifs *	le plus faible	le plus élevé	
1501 - 1502 - 1505 - 1506	62,9	16,3	166,6	10
1503 - 1504 - 1507 - 1508	97,3	11,7	262,8	22

\* : moyenne tous réactifs confondus,

## 2 - Détection des IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, 876 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 XIII. Pour chacun des échantillons, les conclusions rendues par les laboratoires participants en fonction de la technique utilisée sont rassemblées dans le tableau XIV.

**tableau XIII** - Réactifs utilisés

Techniques / réactifs	Nombre d'utilisateurs (%)
<b>IMMUNOENZYMOLOGIE (IE):</b>	<b>953 (98,8%)</b>
ROCHE "Elecsys/modular Toxo M "	277
ABBOTT "Architect Toxo IgM"	210
BIOMERIEUX "Vidas Toxo IgM"	147
SIEMENS "ToxoM/ADVIA Centaur"	104
BECKMAN "DXI Toxo IgM"	82
BECKMAN COULTER "ACCESS Toxo IgM"	41
DIASORIN "Liaison XL Toxo IgM "	25
SIEMENS "Immulite 2000 toxoplasmose M"	24
ORTHO CLIN. DIAG. "Vitros Toxo IgM"	15
BIORAD "Platelia Toxo IgM"	15
DIASORIN "Liaison Toxo IgM "	4
SIEMENS "Immulite toxoplasmose M"	4
SIEMENS "Enzygnost Toxoplasmose IgM"	3
BIOMERIEUX "Vidas Toxo Compétition"	1

<b>HEMAGGLUTINATION (Hémaggl.):</b> FUMOUCHE "Toxo-HAI"	1 (0,1%)
<b>IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE (IFI):</b> BIOMERIEUX "Toxo-spot IF"	2 (0,2%)
<b>ISAGA :</b> BIOMERIEUX"Toxo ISAGA"	5 (0,5%)
<b>REACTIFS AUTRES :</b>	2 (0,2%)
Total	963 (100%)

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

Echantillons 1501 - 1502 - 1505 - 1506

Technique / Conclusion	IE	ISAGA	IFI	Hémaggl.	autres	Total
Négatif	951	5	2	1	2	961
Positif	2	-	-	-	-	2
Total	953	5	2	1	2	963

Echantillons 1503 - 1504 - 1507 - 1508

Technique / Conclusion	IE	ISAGA	IFI	Hémaggl.	autres	Total
Négatif	946	5	2	1	2	956
Positif	4	-	-	-	-	4
Total	950	5	2	1	2	960

### 3 - Cas clinique

Le cas clinique était le suivant : « prélèvements de deux patientes à deux mois de grossesse pour la détermination de leur statut sérologique en l'absence d'antécédent (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial). Chaque flacon correspond à une patiente différente. Il vous est demandé de réaliser le titrage des IgG (résultat exprimé en UI/mL) et/ou la recherche des IgM, puis à partir des deux résultats (IgG et IgM) obtenus, d'interpréter le profil sérologique et, le cas échéant, d'indiquer les modalités du suivi sérologique et/ou les examens complémentaires à effectuer sur ce premier prélèvement. »

En effet, comme le précise la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale, le titrage des IgG et la recherche des IgM anti-toxoplasme doivent être accompagnés d'une interprétation du profil sérologique ainsi que des modalités du suivi sérologique, le cas échéant.

Les conclusions proposées au choix du biologiste qui pouvait en sélectionner de une à quatre sont rapportées dans le tableau XV.

Les conclusions choisies par les biologistes sont détaillées dans le tableau XVI.

**tableau XV** - Conclusions au choix

Interprétation des résultats du titrage des IgG et de la recherche des IgM	
<b>TOX A</b>	Absence d'anticorps. Absence d'immunité.
<b>TOX B</b>	Taux limite. A considérer comme non immunisée.
<b>TOX C</b>	Immunité ancienne probable.
<b>TOX D</b>	Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose assez récente.
<b>TOX E</b>	Discordance entre deux techniques.

Examens complémentaires et/ou modalités de suivi sérologique	
<b>TOX F</b>	Sérologie à renouveler tous les mois jusqu'à l'accouchement et 1 mois après.
<b>TOX G</b>	Sérologie à contrôler dans 1 à 2 semaines.
<b>TOX H</b>	Sérologie à contrôler dans 3 semaines.
<b>TOX I</b>	A confirmer par une nouvelle sérologie.
<b>TOX K</b>	Suivre les mesures hygiéno-diététiques de prophylaxie.
<b>TOX M</b>	Réaliser une mesure de l'avidité des IgG sur ce prélèvement.
<b>TOX P</b>	Réaliser une seconde technique de détection des IgM de principe différent sur ce prélèvement.
<b>TOX S</b>	Réaliser une seconde technique de détection des IgG de principe différent sur ce prélèvement.
<b>TOX T</b>	Réaliser un Western blot.

**tableau XVI** - Echantillons « IgG positif et IgM négatif » : conclusions des biologistes

Opération	15PAR1	
	1501 - 1502 1505 - 1506	1503 - 1504 1507 - 1508
Echantillons		
Titre moyen IgG (UI/mL)	63	97
Conclusion :		
« <b>TOX C + TOX H</b> » ou « <b>TOX C + TOX I</b> »	<b>82,9 %</b>	<b>81,5 %</b>
TOX C « immunité ancienne probable »	9,8 %	10,8 %
TOX C + TOX G	1,6 %	1,7 %
TOX C + TOX M +/- TOX H ou TOX I	1,4 %	1,5 %
Autres conclusions	4,3 %	4,5 %

## Commentaires

Les recommandations concernant l'interprétation des différents profils sérologiques, citées dans les commentaires ci-dessous sont extraites de la publication du CNR de la toxoplasmose parue dans les Feuilles de Biologie en 2011 (1). Elles ont été reprises dans la 5ème édition du référentiel en microbiologie médicale publiée en 2015.

### 1 - IgG anti-toxoplasme

En ce qui concerne les conclusions (positif, limite, négatif) apportées suite au titrage des IgG anti-toxoplasme, on note une conclusion faussement négative pour chacun des deux échantillons (tableaux X et XI).

Dans un cas, il s'agit d'une erreur d'interprétation du résultat puisque le seuil de la technique (ABBOTT Architect) et le titre reportés sur le formulaire de saisie sont respectivement égal à 3 et 10,6. Par conséquent, le LBM aurait dû conclure « positif ». Dans l'autre cas, le LBM participant a utilisé deux techniques qui ont conduit à deux conclusions différentes : « positive » avec le réactif Architect et « négative » avec le toxolax FUMOZE.

On note aussi quatre conclusions « limite » dont trois proviennent d'utilisateurs du réactif Immulite 2000 ayant trouvé un titre positif de 14 UI/mL pour un seuil du réactif = 8 UI/mL.

En ce qui concerne le titrage des IgG, l'analyse des titres obtenus pour les deux échantillons « IgG positifs » montre, comme pour les opérations de contrôle précédentes, une dispersion importante des résultats inter-réactifs avec les réactifs immunoenzymatiques (tableaux X, XI et XII). Cette donnée doit être prise en compte lorsque l'on veut comparer les titres en IgG de sérums successifs. L'interprétation de la cinétique des anticorps ne sera possible que si les titrages sont réalisés avec le même réactif.

Enfin, on note avec le réactif Architect, un titre moyen égal à 20 pour l'échantillon 1501-02-05-06 et un titre moyen égal à 12 pour l'échantillon 1503-04-07-08, alors que le résultat attendu était un doublement du titre entre les deux échantillons (doublement observé pour l'ensemble des autres réactifs utilisés par les laboratoires participants).

L'explication fournie par la société ABBOTT est la présence dans le premier échantillon d'une quantité importante d'anticorps anti P35 (ou anti GRA-8), cette spécificité étant détectée par l'Architect mais pas par les autres réactifs. Cette présence d'anticorps anti P35 est mise en évidence par une très forte intensité (++++) de la bande correspondante sur le western blot Recomline Mikrogen.

## 2 - IgM anti-toxoplasme

En ce qui concerne la détection des IgM anti-toxoplasme, aucun des deux 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 1923 tests réalisés par l'ensemble des 963 laboratoires qui ont effectué la recherche des IgM anti-toxoplasme, on note six (0,3%) conclusions incorrectes « positif » (tableau XIV) rendues par quatre LBM. Deux LBM utilisateurs de l'Architect ont rendu un résultat faussement positif en IgM pour un des deux échantillons (1503-04-07-08). Toutefois, la conclusion finale qu'ils ont sélectionnée pour cet échantillon « immunité ancienne probable » est la conclusion attendue. Les deux autres LBM ayant utilisé respectivement le Vidas et l'Advia Centaur ont rendu un résultat faussement positif en IgM pour les deux échantillons qu'ils ont testés. L'un a conclu « immunité ancienne probable » et l'autre « Profil sérologique en faveur d'une toxoplasmose assez récente » pour chacun des deux échantillons.

## 3 - Interprétation du profil sérologique et suivi sérologique et/ou examen complémentaire à réaliser sur l'échantillon en fonction du cas clinique

Le pourcentage de laboratoires ayant apporté une conclusion globale à partir des résultats obtenus en IgG et en IgM anti-toxoplasme et du cas clinique « prélèvement d'une patiente à deux mois de grossesse pour la détermination de son statut sérologique en l'absence d'antériorité (toxoplasmose dépistage - sérodiagnostic initial) » est de 99,8%.

Pour les deux échantillons « IgG positif et IgM négatif », la conclusion attendue était : « 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). En effet, en l'absence d'antériorité lors de la grossesse, il convient de contrôler la sérologie sur un second sérum prélevé à 3 semaines d'intervalle (1). On ne conclura à une infection ancienne que si le titre des IgG est stable entre les deux sérums.

La conclusion attendue a été rendue par 82,9% et 81,5% des LBM ayant respectivement testé l'échantillon 1501-1502-1505-1506 et l'échantillon 1503-1504-1507-1508. On note que quelques LBM (1,7%) indiquent un contrôle sérologique à 2 semaines (TOX C) plutôt qu'à 3 semaines (TOX H). Ce délai est un peu court.

Un pourcentage non négligeable (10,3%) de participants concluent « immunité ancienne » (TOX C) sans proposer de contrôle sérologique. Cette conclusion hautement probable dans le cas d'un échantillon « IgG positif et IgM négatif » est correcte mais incomplète.

Enfin, la conclusion TOX C + TOX M « Immunité ancienne probable » + « réaliser une mesure de l'avidité sur ce prélèvement » a été choisie par 25 participants. L'avidité des IgG étant un bon moyen d'éliminer une toxoplasmose récente, cette conclusion n'est pas fautive mais en l'absence d'IgM, elle ne correspond pas à la conclusion attendue.

## Bibliographie

(1) O. VILLARD et coll., Sérodiagnostic de la toxoplasmose en 2010 : conduite à tenir et interprétation en fonction des profils sérologiques obtenus par les méthodes de dépistage. Feuilles de Biologie, 2011, 298 : 43-49.

(2) M-L. DARDE, Toxoplasmose in Rémic, Référentiel en microbiologie médicale, 5<sup>ème</sup> ed, 2015, p 811-822

# Sérologie du paludisme

## Définition de l'échantillon

Proposée pour la quatorzième fois depuis 1986 (année d'introduction de cet examen dans le cadre du contrôle national de qualité), la sérologie du paludisme a concerné 42 laboratoires ayant déclaré le réaliser. Un échantillon identifié P151 et contenant 1 ml de plasma défibriné lyophilisé a été adressé à chacun d'entre eux.

Les échantillons ont été fabriqués à partir d'une poche de plasma congelé d'un donneur, fournie par l'EFS et caractérisée par une sérologie positive en ELISA (ratio moyen : 17,29 avec le kit Malaria EIA Biorad) et en immunofluorescence indirecte (titre : 640 avec le kit Falciparum spot IF Biomérieux).

Les résultats de l'expert - laboratoire Parasitologie, Pitié Salpêtrière - sur l'échantillon lyophilisé sont les suivants : Echantillon positif : titre 1800 en immunofluorescence indirecte avec l'antigène *Plasmodium falciparum* et électrosynérèse positive.

## Résultats des participants

Parmi les 42 laboratoires inscrits pour cet examen, dix ont indiqué qu'ils ne l'effectuaient plus et un n'a pas rendu de résultat sans en préciser la raison.

Le bilan des techniques et réactifs employés par les 31 laboratoires participants montre que la majorité d'entre eux (29/31) utilisent une seule technique de dépistage (IFI : 21 ou ELISA : 8). Seuls deux laboratoires utilisent deux réactifs : dans tous les cas, il s'agit d'une technique IFI, complétée soit par une technique ELISA, soit par une électrosynérèse.

La place occupée par chaque réactif dans l'éventail des techniques utilisées pour la sérologie du paludisme est détaillée dans le tableau XVII : l'IFI, réalisée en majorité avec le réactif Falciparum Spot IF de Biomérieux garde une place prépondérante et l'ELISA reste stable par rapport à 2011.

Le bilan des réponses (positif, négatif ou limite) des 31 laboratoires participants est rapporté dans le tableau XVIII. Les réponses attendues apparaissent en gras.

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

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

Techniques / Réactifs	2003 (n : 68)	2006 (n : 63)	2007 (n : 60)	2008 (n : 57)	2011 (n : 54)	2015 (n : 33)
<b>Immunofluorescence indirecte :</b>	<b>67 (98,5)</b>	<b>51 (80,9)</b>	<b>46 (76,6)</b>	<b>44 (77,2)</b>	<b>36 (66,7)</b>	<b>23 (69,7)</b>
Falciparum Spot IF Biomérieux	39 (57,3)	38 (60,3)	40 (66,6)	38 (66,7)	31 (57,4)	19 (57,6)
Paludix Diagast	7 (10,3)	5 (7,9)	1 (1,7)	1 (1,7)	-	-
« maison » / Ag P. falciparum	8 (11,8)	4 (6,3)	4 (6,6)	3 (5,3)	4 (7,4)	3 (9,0)
« maison » / Ag P. cynomolgi	3 (4,4)	1 (1,6)	-	-	-	-
réactif non précisé	10 (14,7)	3 (4,8)	1 (1,7)	2 (3,5)	-	-
Western blot Euroimmun	-	-	-	-	1 (1,9)	1 (3,0)
<b>ELISA :</b>	<b>0</b>	<b>11 (17,5)</b>	<b>13 (21,7)</b>	<b>12 (21,1)</b>	<b>17 (31,5)</b>	<b>9 (27,3)</b>
Malaria Antibody Test BIORAD						
<b>Electrosynérèse</b>	<b>1 (1,5)</b>	<b>1 (1,6)</b>	<b>1 (1,7)</b>	<b>1 (1,8)</b>	<b>1 (1,8)</b>	<b>1 (3,0)</b>

**tableau XVIII** - Bilan des réponses des 31 laboratoires participants

Réponse 1 (réactif 1)	Réponse 2 (réactif 2)	Effectif
<b>positif</b>	-	<b>28</b>
<b>positif</b>	<b>positif</b>	<b>2</b>
négatif	-	1

**tableau XIX** - Distribution des titres obtenus avec le réactif Falciparum Spot IF/ Biomérieux

titre	160	320	640	1280	1600	2560	5120	> 320	> 1280
effectif (n : 19)	1	3	5	3	2	1	2	1	1

## Commentaires

Les neuf résultats obtenus en ELISA sont tous positifs avec un ratio moyen égal à 8,08.

L'unique électrosynérèse est positive.

Concernant l'IFI, les 19 dépistages réalisés avec le réactif Biomérieux sont positifs avec un titre modal égal à 640 et une moyenne géométrique calculée à partir des titres en inverse de dilution égale à 910. On note également un dépistage positif pour les 3 LBM qui utilisent un réactif « maison »

En revanche, le seul dépistage effectué avec le réactif Euroimmun (western blot comportant deux protéines recombinantes de *P. falciparum* et de *P. vivax* : Pf-HRP2, Pf-MSP2, Pv-MSP, Pv-CSP) est négatif. Le LBM concerné par ce faux négatif a adressé le reliquat d'échantillon congelé au CERBA qui l'a confirmé négatif par la technique IFI bioMérieux, alors qu'en tant que participant à cette opération de contrôle, le CERBA avait rendu l'échantillon P151 « positif ». En conclusion, le seul résultat faussement négatif est vraisemblablement dû à une erreur d'échantillon.