

reste délicate. Isoler une grande quantité de levures dans les selles n'est pas synonyme de candidose intestinale. Chez le patient à haut risque fongique, cette interprétation doit se faire en terme de colonisation digestive et donc de risque de dissémination.

#### En pratique

- Les levures sont des saprophytes de muqueuses, ce qui rend l'interprétation de leur présence dans les selles difficile.
- Les candidoses intestinales vraies sont rares; l'isolement de nombreuses colonies de *Candida* dans les

selles correspond plus souvent à un déséquilibre de la flore digestive en rapport avec des facteurs favorisants.

- Chez le patient immunocompétent, les âges extrêmes, l'antibio-thérapie et le diabète sont les principaux facteurs favorisant ce déséquilibre.
- Chez l'immunodéprimé à "haut risque fongique", l'examen mycologique des selles permet la surveillance d'une colonisation digestive.
- Chez ces patients, le risque de dissémination est important au-delà de  $10^5$  levures par gramme de selles.

#### Références

1. Grillot R, Lebeau B, Ambroise-Thomas P. Comment interpréter la présence de levures dans un prélèvement biologique. *Lettre de l'infectiologue* 1991; 6: 161-5.
2. GEMO. Situation épidémiologique ponctuelle des isolements mycologiques en France en 1993. Congrès de la Société française de mycologie médicale. Grenoble 14-15 mai 1994.
3. Grillot R. Mycoses oropharyngées, œsophagiennes et gastro-intestinales. In: *Mycoses humaines: démarche diagnostique*. Paris: collection Option Bio. Elsevier ed. 1996: 93-115.
4. Odds FC. *Candida allergy*. In: *Candida and candidosis. A review and bibliography*. London: Baillière Tindall eds. 1988: 231-4.
5. Dupont B. Clinical manifestations and management of candidosis in the compromised patient. In: *Fungal infection in the compromised patient*. Chichester: Warnock DW, Richardson MD, eds. 1991: 55-71.
6. Koenig H. Levures. In: *Guide de mycologie médicale*. Paris: Ellipses, 1995: 32-83.

---

© ГУБЕ С., ПЕЛУ Х., ФРИКЕР-ИДАЛЬГО Х., ГУЛЬЕ-ФЛЁРЕ А., АМБРУАЗ-ТОМА П. –  
УДК 616.993.192.1-078

## СЕРОДИАГНОСТИКА ТОКСОПЛАЗМОЗА: СРАВНЕНИЕ НАБОРА ELISA AXSYM® (Abbott) С НАБОРОМ VIDAS® (bioMérieux); МЕТОДОМ НЕПРЯМОЙ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ И Isaga

*С. Губе, Х. Пелу, Х. Фрикер-Идальго, А. Гулье-Флёр, П. Амбруаз-Тома.*

(Франция, Гренобль. Госпитально-университетский центр, генеральный директор – проф. Жан-Пьер Бастар; Отдел медицинской молекулярной паразитологии и микологии)

Серодиагностика токсоплазмоза является очень важной в двух случаях: у беременных женщин и у пациентов с серопозитивной реакцией на ВИЧ. Что касается беременных женщин, то серодиагностика проводится либо в начале беременности для определения серологического статуса женщины, чтобы исключить периконцептуальную сероконверсию, либо ежемесячно, чтобы диагностировать сероконверсию у беременной женщины с серонегативной реакцией [1]. Опасность сероконверсии во время беременности заключается в том, что может произойти тяжелое заражение плода [2], которое возможно предупредить, соблюдая правила гигиены и диету, а также осуществляя серологическое обследование, которое во Франции является обязательным. Принимая во внимание опасности развивающегося впоследствии токсоплазмозного хориоретинита, наблюдение за здоровыми детьми, родившимися у матерей с сероконверсией, проявившейся во время бере-

менности, также является очень важным. Во втором случае (пациенты с положительной реакцией на ВИЧ) речь идет об опасности реактивации токсоплазмоза, которая влечет за собой церебральный, легочный или диссеминированный токсоплазмоз [3].

Для серологической диагностики используется множество различных методов. Для многих авторов исходной основой остается *Dye-test* [4], но наиболее часто применяемыми являются методы ИФА. Оба эти метода выражают уровень IgG в международных единицах по отношению к сыворотке, являющейся эталоном Всемирной Организации Здоровья [5]. Лаборатория Abbott разработала набор ИФА для серодиагностики токсоплазмоза на мультипараметрическом автомате *AxSYM*®. Целью настоящего исследования является сравнение этого набора и набора ИФА *Vidas*® (bioMérieux), непрямо́й иммунофлюоресценции и *Isaga*.

## Материалы и методы

### Образцы сывороток

Исследование состояло из двух фаз; во время каждой исследовались два типа образцов сывороток. В первую фазу исследовались “несортированные” сыворотки, взятые у пациентов, которые постоянно лечились в паразитологической лаборатории Университетского Госпитального Центра Гренобля. В период с января по март 1998 года было исследовано 240 образцов сывороток. Во вторую фазу исследовались образцы сывороток, взятых из нашей серотеки, от беременных с сероконверсией. Таким образом, был изучен 41 образец сывороток, представляющих 10 больных.

### Использованные технологии

Для всех сывороток, включенных в исследование, были использованы следующие технологии: ИФА на IgG и IgM с набором Vidas® (bioMerieux) и набором Axsym® (Abbott) [6], (исследование) на IgG и IgM и Isaga (bioMerieux) для некоторых сывороток, у которых IgM были положительны или предельны при использовании одной из методик.

• **Axsym Toxo® G и Toxo M.** Этот набор применяется на мультипараметрическом автомате и для обнаружения IgG и IgM использует микрометод. Микрочастицы покрываются антигеном *Toxoplasma gondii* и инкубируются вместе с тестируемой сывороткой. Аликвотная часть комплекса антиген-антитело анти-*T. Gondii* переносится затем на стеклянную матрицу, которая фиксирует эти комплексы, пока промывание не удалит излишние компоненты. Затем добавляются к человеческим иммуноглобулинам анти-IgG и IgM, соединенные со щелочной фосфатазой и ее энзиматическим субстратом (метил-умбеллиферил-фосфат). Флюоресценция, вызываемая дефосфорилиацией субстрата, измеряется и преобразовывается по калибровочным кривым в соответствие со стандартами Всемирной Организации Здоровья в международных единицы на миллиметр для IgG [5] и в индексы для IgM (соотношение флюоресценции протестированной сыворотки к флюоресценции эталонных сывороток). Пороговая положительная величина, которая на данный момент является одной из самых низких [6] и близких к Day-test, составляет 3 UI/ml для IgG, сомнительная зона – 2-3; для IgM соответственно – 0,6 и 0,5-0,599.

• **Vidas.** Этот набор действует на базе иммуноферментного метода [7]. Тестируемая сыворотка помещается в первую из десяти лунок, другие лунки содержат раствор для промывания, мышинные моноклональные антитела к человеческим IgG или IgM, соединенные со щелочной фосфатазой и метил-умбеллиферил-фосфатом. Единицы выражения результатов те же самые, а пороговые положительные величины составляют 10 UI/ml для IgG с зоной сомнительности 8-10 и индексом 0,65 для IgM с зоной сомнительности 0,55-0,65.

• **Непрямая иммунофлюоресценция (IFI).** Перед добавлением антител к человеческим IgG или IgM, отмеченных флюоресцеином, антигены (тахизоит штамма RH *T. gondii*, культивированный на мышах) инкубируют с тестируемой сывороткой. Пороговые положительные величины составляют 8 UI/ml для IgG (раствор 1/20) и при растворе 1/40 для IgM [8].

• **Isaga®.** В лунки с антителами к человеческим IgM помещаются: тестируемая сыворотка, а затем токсоплазмы, фиксированные формалином [9]. В случае отрицательного результата реакции, токсоплазмы выпадают в осадок на дно отсека, что дает очень яркую окраску. В случае положительного результата, наоборот, на отсеке образуется однородная пленка, цвет которой будет тем светлее, а кольцо тем шире, чем интенсивнее будет реакция. Эта реакция оценивается в диапазоне 0-12, пороговая положительная величина – 9.

## Результаты

### “Несортированные” сыворотки

Серологические результаты “несортированных” сывороток представлены в таблице 1.

Таблица 1.

### Серологические результаты исследований несортированных сывороток

Разряд	Подразряд	Количество
Несовпадающие		9 (3,8%)
Совпадающие	Отрицательные	131 (54,6%)
	IgG <sup>+</sup>	87 (36,2%)
	IgM <sup>+</sup>	1 (0,4%)
	IgG <sup>+</sup> и IgM <sup>+</sup>	12(5%)

Результаты обследования на IgG, полученные с помощью Axsym®, Vidas® и IFI представлены в таблице 2.

Таблица 2.

### Результаты исследования на IgG в Axsym® и IFI, Axsym® и Vidas®

	Axsym <sup>+</sup>	Axsym <sup>-</sup>
IFI <sup>+</sup>	102	3
IFI <sup>-</sup>	1	134
Vidas <sup>+</sup>	102	1
Vidas <sup>-</sup>	1	136

Мы получили незначительное соотношение несовпадающих результатов (табл.3): 9 (3,8%) случаев на 240 протестированных сывороток из которых 4 IgG, 4 IgM и один случай двойного несовпадения IgG и IgM. В трех случаях (№№4, 6 и 9) ИФА Axsym® дает положительные результаты IgM, в то время как другие методы дают отрицательные или пороговые результаты. В случае №7 результат Isaga® – положительный, а IgM в ИФА Axsym® и Vidas® – отрицательный. Случай №8

Таблица 3.

## Несовпадающие результаты "несортированных" сывороток

Сыворотки	IgG			IgM			
	Axsym <sup>®</sup> (UI/ml)	Vidas <sup>®</sup> (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym <sup>®</sup> индекс	Vidas <sup>®</sup> индекс	IFI титр	Isaga <sup>®</sup> индекс
1	3,2	3	0	0,06	0,10	0	0
2	1,9	5	8	14,10	2,82	1/20	12
3	2,6	4	8 (граница)	0,31	1,67	0	6
4	22,2	74	8	0,70	0,58	0	0
5	2,7	11	8	0,16	0,11	0	/
6	0	0	0	0,66	0,09	0	6
7	2,0	2	0	0,41	0,46	0	9
8	69,3	206	80	1,24	0,90	0	0
9	69,6	145	160	1,09	0,27	0	0
Пороговая положительная величина	3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"Зона сомнительности"	2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

показывает положительные результаты IgM для обоих наборов ИФА, результат же Isaga<sup>®</sup> является отрицательным. В случае №5 IgG находятся в зоне сомнительности в Axsym<sup>®</sup>, а в ИФА Vidas<sup>®</sup> и в IFI результаты IgG являются положительными. В случае №1 результаты IgG положительны в ИФА Axsym<sup>®</sup>, в то время как при других методах они отрицательны. Случай №2 показывает IgG положительные в IFI, а в Axsym<sup>®</sup> и Vidas<sup>®</sup> результаты ИФА отрицательны. Случай №3 демонстрирует двойное несоответствие на IgG и IgM: IFI IgG положительные, но очень пороговые, в то время как оба набора ИФА дают отрицательный результат; ИФА Vidas<sup>®</sup> IgM – положительны, в то время как

при других методах результат отрицательный или пороговый.

*Сероконверсии*

Из 41 образца изученных нами сывороток от 10-ти беременных с сероконверсией мы обнаружили 12 несоответствующих сывороток на IgG и 2 на IgM (табл.4).

Результаты ИФА Axsym<sup>®</sup> на IgG у пациентов №№ 1-5 являются более ранними, чем результаты в ИФА Vidas<sup>®</sup>, которые остаются отрицательными больше двух месяцев после предполагаемой даты сероконверсии в случае №3. В случае №6 IgM ни разу не были положительными в двух наборах

Таблица 4.

## Несовпадающие сыворотки среди случаев с сероконверсией

Пациент	Сыворотка	Время /СК	IgG			IgM			
			Axsym <sup>®</sup> (UI/ml)	Vidas <sup>®</sup> (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym <sup>®</sup> Index	Vidas <sup>®</sup> Index	IFI titre	Isaga <sup>®</sup> Index
1	В	2	9,6	1	8	5,02	3,65	1/160	12
	С	4	30,6	4	8	6,05	3,44	1/160	12
2	В	2	28,6	7	8	3,68	2,99	1/160	12
	А	3	3,7	0	0	2,00	3,62	0	12
3	В	4	4,4	0	0	1,95	3,46	1/40	12
	С	5	6,9	1	8	1,89	2,52	1/40	12
	Д	10	7,1	3	8	1,01	1,67	0	12
4	С	1	3,6	0	8	0,90	0,88	1/20	12
	Д	3	15,4	7	8	1,18	1,08	1/20	12
5	Д	2	13,1	2	8	5,51	5,79	1/80	12
	С	5	11,6	2	8	5,30	4,60	1/40	12
	Д	8	19,9	8	8	2,76	3,47	1/40	12
6	В	6	19,1	11	8	0,58	0,55	0	9
	С	8	46,3	26	160	0,52	0,52	0	9
пороговая положительная величина			3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"зона сомнительности"			2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65	1/20	9

Примечание: СК: сероконверсия

ИФА, между тем как Isaga<sup>®</sup> была положительной с самого начала. В четырех других случаях не было замечено значительной разницы между результатами двух наборов, для которых динамика появления антител была идентичной.

### Обсуждение

Опираясь на данное исследование, мы можем отметить множество аспектов набора ИФА Axsym<sup>®</sup>, важных для серодиагностики токсоплазмоза. Что касается IgG 240 “несортированных” сывороток, то соотношение результатов данного набора с результатами набора Vidas<sup>®</sup> составляет 99,15%, а с результатами IFI – 98,33%. Серологические результаты IgM Axsym<sup>®</sup> или Vidas<sup>®</sup> соотносятся с результатами Isaga<sup>®</sup> на 75%. Тем не менее, с одной стороны, необходимо уточнить, что Isaga<sup>®</sup> была осуществлена только для незначительного числа сывороток (21 из 240 “несортированных” сывороток), а, с другой стороны, следует напомнить, что международного *золотого стандарта* для IgM не существует. Эти данные сравнимы с данными похожих исследований, оценивающих другие наборы ИФА [8,10,11]. Кроме того, проведение теста  $\chi^2$  в парных сериях позволяет говорить о том, что не существует статистически значимой разницы между результатами серологических исследований “несортированных” сывороток, полученных при использовании набора Axsym<sup>®</sup> и результатами, полученными при использовании набора Vidas<sup>®</sup>, оценка которого уже была проведена в другом исследовании [7].

Случаи несоответствия “несортированных” сывороток различны (табл.3): при применении Axsym<sup>®</sup> №№ 4,6,8,9 соответствуют остаточным IgM, так как наблюдается повышенное процентное содержание IgG. При использовании Vidas<sup>®</sup>, IgM в случаях №№4 и 8 также положительны (№8) и предельны (№4). Несоответствия случая №6 являются неспецифичными, так как дальнейшие серологические исследования, проводимые у этого же самого пациента, не показали ни титров IgM, ни появления IgG. Wilson et al. наблюдали сходные результаты, в том числе для набора Vidas<sup>®</sup>, для которого мы получили положительные показатели на IgM (№№3 и 8), в то время как эти авторы ссылаются на метод ИФА персональный (Elisa IgM, Paolo Alto Medical Foundation), а не на Isaga<sup>®</sup>. Случаи №№2 и 7 соответствуют началу сероконверсии во время беременности, которую мы смогли диагностировать по динамике антител и серологическим результатам других сывороток, IFI IgG в случае №2 является более ранними и бо-

лее точными. ИФА Axsym<sup>®</sup> на IgG была в несоответствии в двух случаях: в случае №5, где она была в зоне сомнительности, в то время как IgG были положительные (Vidas<sup>®</sup> и IFI) в сыворотках, которые у нас были до этого, и в случае №1, в котором ребенок родился от матери, у которой во время беременности наблюдалась сероконверсия, серологические показатели IgG которой не прекращали понижаться в предыдущих сыворотках. Результаты определения IgG продолжают еще оставаться положительными в Axsym<sup>®</sup>, так как, нужно об этом напомнить, этот набор имеет очень низкую пороговую величину. В случае №3 мы не располагали другими сыворотками, так как пациент находился в коме, поэтому полученные результаты сложно интерпретировать. Мы сделали вывод, что отрицательная серология в соответствии с результатами IFI на IgG была на пороговом уровне, а другие методы давали отрицательные результаты на IgG (Axsym<sup>®</sup> в зоне сомнительности), с неспецифическими IgM (Vidas<sup>®</sup>), учитывая отрицательность Isaga<sup>®</sup>, которая является нашим эталонным методом. Нужно отметить, что мы не наблюдали при использовании Axsym<sup>®</sup> положительных показателей IgG у пациентов с сероположительной реакцией на ВИЧ. И это является усовершенствованием по отношению к IMX второго поколения [8].

При помощи набора Axsym<sup>®</sup> IgG у пяти из десяти беременных с сероконверсией были выявлены ранее, чем при помощи набора Vidas<sup>®</sup>, что позволяет думать, что антигены, используемые в наборе Axsym<sup>®</sup> доступны иммунному ответу организма после первичной инфекции *T. gondii*. №6 (табл.4) является наименее часто встречаемым примером сероконверсии, подтвержденным присутствием предыдущих отрицательных сывороток, без стойко положительных IgM в ИФА.

### Заключение

Набор ИФА Axsym Toxo<sup>®</sup> IgG и IgM дает хорошие результаты, стойко коррелирующие, особенно для IgG, с результатами ИФА Vidas<sup>®</sup> и IFI, которые соответствуют ожидаемым достижениям для серодиагностики токсоплазмоза. Кроме того, раннее выявление IgG, которого мы достигли по отношению к другим сравниваемым методам, в некоторых случаях сероконверсии до беременности может быть интересным для установления даты сероконверсии и быстрой постановки на учет беременной женщины.

# SÉRODIAGNOSTIC DE LA TOXOPLASMOSE: COMPARAISON DE LA TROUSSE ELISA AXSYM (Abbott) AVEC LA TROUSSE VIDAS® (bioMérieux), L'IMMUNOFLUORESCENCE INDIRECTE ET L'Isaga

S. Goubet, H. Pelloux, H. Fricker-Hidalgo, A. Goullier-Fleuret, P. Ambroise-Thomas.

(Département de parasitologie-mycologie, CHU, BP 217, 38043 Grenoble. France)

Le sérodiagnostic de la toxoplasmose est important dans deux cas de figure essentiels: chez les femmes enceintes et chez les patients séropositifs pour le VIH. Dans le premier cas, il s'agit soit de déterminer le statut sérologique d'une femme en début de grossesse afin d'éliminer une séroconversion périconceptionnelle, soit de poser le diagnostic de séroconversion pendant la grossesse chez une femme enceinte séronégative suivie de façon mensuelle [1]. Le risque d'une séroconversion pendant la grossesse est celui d'une atteinte fœtale grave [2] qui peut être prévenue par des mesures hygiéno-diététiques et le dépistage sérologique obligatoire en France. La surveillance d'un enfant asymptomatique né d'une mère ayant présenté une séroconversion pendant la grossesse est également importante eu égard aux risques de chori-rétinite toxoplasmique ultérieure. Dans le deuxième cas (VIH-positif), le risque est celui d'une réactivation toxoplasmique entraînant une toxoplasmose cérébrale, pulmonaire ou disséminée [3].

Plusieurs techniques sont utilisées pour ce diagnostic sérologique, la référence restant le Dye-test [4] pour beaucoup d'auteurs, mais les plus utilisées sont les techniques Elisa. Ces deux techniques ont en commun l'expression des résultats des IgG en unités internationales par référence à un sérum étalon de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) [5]. Les Laboratoires Abbott ont développé une trousse Elisa de sérodiagnostic pour la toxoplasmose sur un automate multiparamétrique: l'AxSYM®. Le but de cette étude était de comparer les performances de cette technique avec celles de l'Elisa Vidas® (bioMérieux), de l'immunofluorescence indirecte (IFI) et de l'Isaga.

## Matériels et méthodes

### *Échantillons de sérums*

L'étude a comporté deux phases distinctes concernant chacune deux types d'échantillons de sérums. La première phase a concerné des sérums "tout-venant" prélevés parmi ceux qui sont traités par le laboratoire de parasitologie du CHU de Grenoble en routine quotidienne. Deux cent quarante sérums ont été étudiés entre les mois de janvier et de mars 1998. La deuxième phase a concerné des sérums issus de notre sérothèque correspondant à des dossiers de séroconversions durant la grossesse. Quarante et un sérums, représentant dix dossiers, ont ainsi été étudiés.

### *Techniques utilisées*

Sur tous les sérums inclus dans l'étude ont été réalisées les techniques suivantes: Elisa IgG et IgM avec la trousse Vidas® (bioMérieux) et la trousse AxSYM® (Abbott) [6], immunofluorescence en IgG et IgM et Isaga (bioMérieux) pour certains sérums dont les IgM étaient positives ou limites avec une des autres techniques utilisées.

- **AxSYM Toxo® G et Toxo M.** Cette trousse s'utilise sur un automate multiparamétrique et emploie pour la détection des IgG et IgM une technique microparticulaire. Les microparticules sont recouvertes d'antigène de *Toxoplasma gondii* et sont incubées avec le sérum à tester. Un aliquot des complexes antigènes-anticorps anti-*T. gondii* est transféré ensuite sur une matrice en fibre de verre qui fixe ces complexes avant qu'un lavage ne vienne éliminer les composants en excès. Des immunoglobulines anti-IgG ou IgM humaines, conjuguées avec une phosphatase alcaline et son substrat enzymatique (méthyl-umbelliféryl-phosphate), sont ensuite ajoutées. La fluorescence émise par la déphosphorylation du substrat est mesurée et convertie *via* les courbes de calibration obtenues avec les standards OMS, en unités internationales par millilitre pour les IgG [5], et en index pour les IgM (ratio fluorescence du sérum testé sur celle des calibrateurs du fabricant). Le seuil de positivité, qui est l'un des plus bas actuellement [6] et des plus proches du Dye-test, est à 3 UI/ml pour les IgG avec une zone équivoque entre 2 et 3 et à 0,6 index pour les IgM avec une zone équivoque entre 0,5 et 0,599.

- **Vidas®.** Cette trousse utilise une technique immunoenzymatique [7]. Le sérum à tester est déposé dans le premier puits d'un réceptacle en contenant dix; les autres puits contiennent des solutions de lavage, des anticorps monoclonaux de souris anti-IgG ou IgM humaines conjugués à la phosphatase alcaline, et la méthyl-umbelliféryl-phosphate. Les unités d'expression des résultats sont les mêmes et les seuils de positivité sont à 10 UI/ml pour les IgG avec une zone équivoque entre 8 et 10 et à 0,65 index pour les IgM avec une zone équivoque entre 0,55 et 0,65.

- **Immunofluorescence indirecte (IFI).** Les antigènes (tachyzoïtes de la souche RH de *T. gondii* entretenus sur souris) sont mis en présence du sérum à tester avant ajout d'anticorps anti-IgG ou

IgM humaines marqués par la fluorescéine. Les seuils de positivité sont à 8 UI/ml pour les IgG (dilution 1/20<sup>e</sup>) et à la dilution 1/40<sup>e</sup> pour les IgM [8].

- **Isaga<sup>®</sup>**. Dans des puits recouverts d'anticorps-anti-IgM humaines sont déposés; le sérum à tester puis des toxoplasmes colorés par la formaline [9]. En cas de négativité de la réaction, il y a sédimentation des toxoplasmes au fond du puits, ce qui forme un petit point très coloré. A l'inverse, en cas de positivité, il se forme un voile uniforme sur le puits dont la couleur sera de plus en plus claire et l'anneau de plus en plus large en fonction de l'intensité de la réaction. Cette réaction est cotée en indice de 0 à 12, le seuil de positivité étant à 9.

Tableau 1.

Répartition des résultats sérologiques parmi les sérums "tout-venant"

Catégories	Sous-catégories	Nombre
Discordants		9 (3,8%)
Concordants	Négatifs	131 (54,6%)
	IgG <sup>+</sup>	87(36,2%)
	IgM <sup>+</sup>	1 (0,4%)
	IgG <sup>+</sup> et IgM <sup>-</sup>	12(5%)

### Résultats

#### Sérums "tout-venant"

La dispersion des résultats des sérologies concernant les sérums "tout-venant" est rapportée dans le *tableau 1*. Les résultats en IgG obtenus avec les techniques Axsym<sup>®</sup>, Vidas<sup>®</sup> et IFI sont rapportés dans le *tableau 2*.

Tableau 2.

Contingence des résultats Axsym<sup>®</sup> et IFI, et Axsym<sup>®</sup> et Vidas<sup>®</sup> en IgG

	Axsym <sup>+</sup>	Axsym <sup>-</sup>
IFI <sup>+</sup>	102	3
IFI <sup>-</sup>	1	134
Vidas <sup>+</sup>	102	1
Vidas <sup>-</sup>	1	136

Nous avons obtenu une proportion faible de résultats discordants (*tableau 3*): 9 cas pour 240 sérums testés (3,8%) dont 4 en IgG, 4 en IgM et un seul doublement discordant en IgG et IgM. Dans trois cas (n<sup>os</sup> 4, 6 et 9) l'Elisa Axsym<sup>®</sup> donne des résultats positifs en IgM alors que toutes les autres techniques sont négatives ou limites. Pour le cas n<sup>o</sup> 7, l'Isaga<sup>®</sup> est positive mais les IgM sont négatives en Elisa Axsym<sup>®</sup> et Vidas<sup>®</sup>. Le cas n<sup>o</sup> 8 montre des IgM positives pour les deux troussees Elisa alors que l'Isaga<sup>®</sup> est négative. Le cas n<sup>o</sup> 5 est dans la zone équivoque sur l'Axsym<sup>®</sup> pour les IgG qui sont positives en Elisa Vidas<sup>®</sup> et en IFI et l'Elisa Axsym<sup>®</sup> du cas n<sup>o</sup> 1 est positive en IgG alors qu'elles sont négatives par les autres techniques. Le cas n<sup>o</sup> 2 montre une IFI IgG positive avec des résultats Elisa négatifs sur l'Axsym<sup>®</sup> et le Vidas<sup>®</sup>. Le cas n<sup>o</sup> 3 fait apparaître une double discordance sur les IgG et les IgM: l'IFI IgG y est positive mais très limite alors que les deux troussees Elisa rendent un résultat négatif, l'Elisa Vidas<sup>®</sup> IgM est positive alors que les autres techniques sont négatives ou limites.

#### Séroconversions

Sur les 41 sérums des dix dossiers de séroconversion pendant la grossesse que nous avons étudiés, nous avons observé 12 sérums discordants sur les IgG et 2 sur les IgM (*tableau 4*). En effet, les résultats de l'Elisa Axsym<sup>®</sup> en IgG pour les patientes n<sup>o</sup> 1 à 5 sont plus précoces que ceux de l'Elisa Vidas<sup>®</sup> qui demeurent négatifs jusqu'à plus de deux mois après la date estimée de séroconversion dans le dossier n<sup>o</sup> 3. Dans le dossier n<sup>o</sup> 6, les IgM n'ont jamais été positives avec les deux coffrets Elisa, cependant que l'Isaga<sup>®</sup> était positive à son seuil. Dans les quatre autres dossiers, il n'a pas été noté de différences significatives entre les résultats des deux troussees pour lesquelles les cinétiques d'apparition des anticorps étaient identiques.

### Discussion

Au terme de cette étude, nous pouvons donc souligner plusieurs points importants concernant la trousse Elisa Axsym<sup>®</sup> de sérodiagnostic pour la toxoplasmose. La corrélation des résultats observés avec cette

Tableau 3.

Résultats discordants parmi les sérums "tout-venant"

Sérums	IgG			IgM			
	Axsym <sup>®</sup> (UI/ml)	Vidas <sup>®</sup> (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym <sup>®</sup> index	Vidas <sup>®</sup> index	IFI titre	Isaga <sup>®</sup> index
1	3,2	3	0	0,06	0,10	0	0
2	1,9	5	8	14,10	2,82	1/20	12
3	2,6	4	8 (limite)	0,31	1,67	0	6
4	22,2	74	8	0,70	0,58	0	0
5	2,7	11	8	0,16	0,11	0	/
6	0	0	0	0,66	0,09	0	6
7	2,0	2	0	0,41	0,46	0	9
8	69,3	206	80	1,24	0,90	0	0
9	69,6	145	160	1,09	0,27	0	0
seuil de positivité	3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"zone équivoque"	2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

trousse est de 99,15% avec ceux de la trousse Vidas® et de 98,33% avec ceux de l'IFI en ce qui concerne les IgG des 240 sérums "tout-venant". Les résultats sérologiques en IgM Axsym® ou Vidas® sont corrélés à 75% avec ceux de l'Isaga. Cependant, il faut préciser d'une part que l'Isaga n'a été réalisée que pour un nombre faible de sérums (21 sur les 240 parmi les sérums "tout-venant"), et d'autre part rappeler l'absence de *gold standard* international pour les IgM. Ces données sont comparables à celles d'études similaires évaluant d'autres troupes Elisa [8, 10,11]. En outre, la réalisation d'un test de  $\chi^2$  en séries appariées permet de dire qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative entre les résultats sérologiques des sérums "tout-venant" obtenus avec la trousse Axsym® et ceux obtenus avec la trousse Vidas® déjà évaluée dans une autre étude [7].

Les discordances parmi les sérums "tout-venant" sont différentes selon les cas (tableau 3): les n°s 4, 6, 8 et 9 correspondent à des IgM résiduelles avec l'Axsym® puisque les IgG sont à des taux élevés. Les cas 4 et 8 sont aussi positifs (n° 8) et équivoque (n° 4) en IgM Vidas®. Celles du cas n° 6 sont non spécifiques car des sérologies ultérieures pratiquées chez ce même patient n'ont pas montré d'ascension des titres d'IgM, ni l'apparition d'IgG. Wilson *et al.* [11] observent des résultats comparables, y compris pour la trousse Vidas® pour laquelle nous avons obtenu des faux positifs en IgM (cas n°s 3 et 8), alors que ces auteurs prennent pour référence une technique Elisa personnelle (Elisa IgM, Palo Alto Medical Foundation) et non l'Isaga®. Les cas n°s 2 et 7 correspondent à un début de séroconversion pendant la grossesse que nous avons pu diagnostiquer sur la cinétique des anticorps et les résultats sérologiques d'autres sérums, l'IFI IgG étant dans le cas n° 2 plus précoce et plus sensible. L'Elisa Axsym® IgG a été discordante par deux fois: dans le cas n° 5 où elle est en zone équivoque alors que les IgG étaient positives (Vidas® et IFI) sur des sérums antérieurs en notre possession, et dans le cas n° 1 qui est celui d'un enfant

né d'une mère ayant présenté une séroconversion pendant la grossesse et dont les taux sérologiques n'ont cessé de décroître en IgG sur des sérums antérieurs. Les IgG demeurent encore positives sur l'Axsym® car, il faut le rappeler, cette trousse possède un seuil très bas [6]. Le cas n° 3, un patient en coma dépassé pour lequel nous ne disposons évidemment pas d'autres sérums, faisait apparaître une sérologie d'interprétation difficile. Nous avons conclu à une sérologie négative dans la mesure où l'IFI IgG était à la limite de la positivité et les autres techniques en IgG étaient négatives (Axsym® en zone équivoque), avec IgM non spécifiques (Vidas®) étant donné la négativité de l'Isaga® qui est notre technique de référence. Il faut signaler que nous n'avons pas observé avec l'Axsym® de faux positifs en IgG chez les sujets séropositifs pour le VIH ce qui semble être une amélioration par rapport à l'IMX de seconde génération [8]. Les IgG de 5 des 10 dossiers de séroconversion pendant la grossesse ont été détectées plus tôt par la trousse Axsym® que par la trousse Vidas®, ce qui laisse à penser que les antigènes utilisés dans la trousse Axsym® sont accessibles plus précocement à la réponse immunitaire de l'organisme après une primo-infection par *T. gondii*. Le dossier 6 (tableau 4) est un exemple peu fréquent d'une séroconversion, affirmée par la présence de sérums antérieurs négatifs, sans IgM fortement positives en Elisa.

### Conclusion

La trousse Elisa Axsym Toxo® IgG et IgM donne donc de bons résultats, fortement corrélés, en particuliers pour les IgG, avec ceux de l'Elisa Vidas® et de l'IFI et qui correspondent aux performances attendues pour le sérodiagnostic de la toxoplasmose. En outre, la précocité d'apparition des IgG que nous avons obtenue par rapport aux autres méthodes de comparaison dans certains dossiers de séroconversions pergravidiques peut-être intéressante pour la datation et la prise en charge rapide de la femme enceinte.

Tableau 4.

Sérums discordants parmi les cas de séroconversions

Patiente	Sérum	Temps/SC (semaines)	IgG			IgM			
			Axsym* (UI/ml)	Vidas* (UI/ml)	IFI (UI/ml)	Axsym* index	Vidas* index	IFI titre	Isaga* index
1	b	2	9,6	1	8	5,02	3,65	1/160	12
	c	4	30,6	4	8	6,05	3,44	1/160	12
2	b	2	28,6	7	8	3,68	2,99	1/160	12
3	a	3	3,7	0	0	2,00	3,62	0	12
	b	4	4,4	0	0	1,95	3,46	1/40	12
	c	5	6,9	1	8	1,89	2,52	1/40	12
	d	10	7,1	3	8	1,01	1,67	0	12
4	c	1	3,6	0	8	0,90	0,88	1/20	12
	d	3	15,4	7	8	1,18	1,08	1/20	12
5	b	2	13,1	2	8	5,51	5,79	1/80	12
	c	5	11,6	2	8	5,30	4,60	1/40	12
	d	8	19,9	8	8	2,76	3,47	1/40	12
6	b	6	19,1	11	8	0,58	0,55	0	9
	c	8	46,3	26	160	0,52	0,52	0	9
seuil de positivité			3	10	8	0,6	0,65	1/20	9
"zone équivoque"			2-3	8-10		0,5-0,6	0,55-0,65		

## Рéférences

1. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. Clin Infect Dis 1994; 18: 853-62.
2. Couvreur J, Thuillez P, Daffos F, et al. Fœtopathie toxoplasmique. Arch Fr Pédiatr 1991; 48: 397-403.
3. Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in Aids. Clin Infect Dis 1992; 15: 211-22.
4. Desmonts G. Sur la technique de l'épreuve de lyse des toxoplasmes. Arch Biol Méd 1955; 3: 193-8.
5. Petithory JC, Ambroise-Thomas P, De Loye J, et al. Le sérodiagnostic de la toxoplasmose: étude d'une gamme étalon, par les différents tests actuels et avec expression des résultats en unités internationales. Bull OMS 1996; 74: 291-8.
6. Cimon B, Morin O, Bessières MH, et al. Interprétation des taux faibles d'anticorps antitoxoplasmiques avec les tests IMx Toxo IgG version 2.0 et AxSYM Toxo IgG. Rev Fr Lab 1998; 299: 49-51.
7. Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Évaluation du système Vidas pour le diagnostic sérologique de la toxoplasmose. Ann Biol Clin 1993; 51: 875-8.
8. De Champs C, Pelloux H, Cambon M, Fricker-Hidalgo H, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation of the second generation IMx Toxo IgG antibody assay for detection of antibodies to Toxoplasma gondii in human sera. J Clin Lab Anal 1997; 11: 214-9.
9. Desmonts G, Naot Y, Remington JS. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired Toxoplasma infections. J Clin Microbiol 1981; 14: 486-91.
10. Derouin F, Garin YJ, Buffard C, Berthelot F, Petithory JC. Multicenter study of Toxoplasma serology using various commercial Elisa reagents. Bull World Health Organ 1994; 72: 249-56.
11. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to Toxoplasma gondii. J Clin Microbiol 1997; 35: 3112-5.

© ПИНЕЛЬ С., РЕЖАСС С., ПИКО С., БРЕНЬЕ-ПИНШАР М.-П., ГРИЙО Р., АМБРУАЗ-ТОМА П. – УДК 616.933.1

## BLASTOCYSTIS HOMINIS: АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ БОЛЕЕ ЧЕМ 3 500 КОПРОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С ТОЧКИ ЗРЕНИЯ ЭПИДЕМИОЛОГИИ И КЛИНИКИ

С. Пинель, С. Режасс, С. Пико, М.-П. Бренье-Пиншар, Р. Грийо, П. Амбруз-Тома.

(Больница Альбер-Мишалон, отделение паразитологии-микологии. Франция)

*Blastocystis hominis* – это широко распространенное простейшее, паразит или комменсал слепой кишки человека. Он был также выделен из проб фекалий различных млекопитающих, экскрементов домашних птиц и из пищеварительного тракта некоторых змей [1]. Однако относится ли он к антропоозоозам не определено [1]. *Blastocystis hominis* рассматривался долгое время как дрожжеподобный гриб и был отнесен к простейшим лишь в 1967 году [1]. Его морфобиологические и молекулярные характеристики придают ему особенные свойства, что оправдывает образование целого класса лишь для одного этого вида. Он является объектом постоянных научных дискуссий, касающихся, главным образом, его таксономической позиции среди простейших организмов, его патогенности и его, возможно, оппортунистического характера. Как для биологов, так и для клиницистов интересны методы, предпочитаемые для выявления *Blastocystis hominis* при заборе анализа кала.

В данной статье мы представляем результаты, полученные в течение 4-х лет в отделении паразитологии-микологии, отражающие частоту, клинические проявления и оппортунистический характер *Blastocystis hominis*, который очень часто оставляют без внимания в городских паразитологических лабораториях. Мы предлагаем, в зависимости от результатов, наиболее подходящий алго-

ритм при положительных результатах исследований.

### Техническое оснащение и методы

Для обнаружения паразитов в течение 4 лет (1992-1996 г.г.) было взято 3 542 фекальных пробы у 2 581 больного. Обнаружение *Blastocystis hominis* проводилось микроскопическим исследованием проб. Были исследованы только вакуолярные и гранулезные формы паразитов (рис.1)\*, те, которые чаще всего являются предметом паразитологической диагностики. Они, в самом деле, очень легко идентифицируются при прямом исследовании при увеличении в 400 раз по их характерной структуре и по крайней гетерогенности их размеров в одной и той же пробе (от 2 до 60 мкм), но тем не менее нет никакого риска перепутать их с другими кишечными простейшими. Более редкие формы (цисты и амёбовидные формы) требуют сложной диагностики, и их выявление является исключительным в госпитальной практике. Мы не использовали методы концентрации, в частности бифазные методы, которые искажают и растворяют вакуолярную форму. Данная форма, характеризуется присутствием центральной вакуоли, отталкивающей от цитоплазматической мембраны объемистые включения (ядра, органоиды,

\* Рис.1. на стр.27.