

Etude multicentrique de la sérologie toxoplasmique par différents réactifs ELISA commercialisés

F. Derouin,¹ Y.J.F. Garin,² C. Buffard,³ F. Berthelot,⁴ J.C. Petithory,⁵ et le groupe de travail Toxoplasmose⁶ du Contrôle National de Qualité en Parasitologie

Une étude comparative de 16 trousse ELISA-IgG a été réalisée à partir de 51 sérums négatifs et positifs titrés en unités internationales. Pour les sérums négatifs, des réactions faussement positives ont été observées avec une trousse. Pour les sérums positifs, on observe en général des titres supérieurs en ELISA, comparativement aux titres exprimés en UI. Cette tendance est confirmée par l'analyse de régression réalisée pour toutes les trousse, dans l'intervalle de titres compris entre 9 et 250 unités. Au-delà de 250 UI, la très grande variabilité observée entre les trousse rend toute analyse comparative impossible. Pour chaque trousse, les tendances au sur- ou au sous-titrage mises en évidence pour un fabricant donné se révèlent dans l'ensemble constantes entre les deux études. Cette étude collaborative a permis, par une méthode d'analyse simple, de proposer une nouvelle approche de la standardisation des différentes trousse ELISA.

Introduction

Les techniques sérologiques appliquées au diagnostic de la toxoplasmose doivent permettre en premier lieu de distinguer les individus non infectés, dépourvus d'anticorps spécifiques, de ceux infectés — même anciennement — ayant des anticorps circulants à des taux souvent faibles. Cette distinction est essentielle pour de nombreux malades «à risque» vis-à-vis de l'infection toxoplasmique (femmes enceintes et malades immunodéprimés principalement). Ces patients sont exposés au risque de primo-infection s'ils sont séronégatifs, ou au contraire au risque de réactiva-

tion d'une infection ancienne s'ils sont séropositifs. Chez ces sujets, la présence ou l'absence d'anticorps conditionne l'adoption d'éventuelles mesures préventives, hygiéno-diététiques ou chimioprophylactiques (1, 2).

Il est également impératif d'apprécier l'évolution ou l'ancienneté de l'infection par la mise en évidence et le titrage des différents isotypes d'anticorps spécifiques. Le dosage de IgM et/ou des IgA est un apport important dans les infections relativement récentes, mais le titrage des IgG reste primordial pour caractériser le stade évolutif, dans la mesure où cet isotype est produit tout au long de l'infection. De nombreuses techniques ont été proposées dans ce but, reposant sur des principes immunologiques très différents, et produisant des résultats exprimés en titre, en dilution ou en densité optique. Dès 1968, l'Organisation mondiale de la Santé a proposé une standardisation des résultats basée sur la conversion du titre (exprimé en dilution pour chaque technique sérologique) en unités internationales (UI) (3). Ce système d'unités internationales a été mis au point à partir des tests de lyse et d'immunofluorescence (IF) impliquant avant tout des antigènes membranaires (4). Par extension, il a été appliqué à d'autres réactions immunologiques utilisant des antigènes différents, mais la correspondance des titrages obtenus avec les différentes méthodes n'est pas toujours respectée, probablement en raison des différences entre les antigènes impliqués dans ces réactions (5, 6). Ces discordances sont particulièrement observées avec les réactions immunoenzymatiques de type ELISA

¹ Professeur des Universités-Praticien hospitalier. Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Saint-Louis, 1 Avenue Claude Vellefaux, 75475 Paris Cedex 10, France. Les demandes de tirés à part doivent être adressées à cet auteur.

² Maître de Conférences-Praticien hospitalier. Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France.

³ Président. Syndicat des Fabricants de Réactifs de Laboratoire, 6 rue de la Trémoille, 75008 Paris, France.

⁴ Technicienne. Centre Hospitalier de Gonesse, 25 rue Pierre de Theilley, 95500 Gonesse, France.

⁵ Responsable scientifique du Contrôle National de Qualité en Parasitologie. Centre Hospitalier de Gonesse, 25 rue Pierre de Theilley, 95500 Gonesse, France.

⁶ Groupe de travail Toxoplasmose, du Contrôle National de Qualité en Parasitologie: P. Ambroise-Thomas, H. Baufine-Ducrocq, P. Couzineau, F. Derouin, J.P. Garin, M. Mojon, J.L. Jacquemin, T. Kien, G. Niel, A. Paris-Hamelin, M. Pestre-Alexandre, J.C. Petithory, J.M. Pinon, J.M. Quilici, R. Robert, J.M. Senet, J.P. Seguela, P. Thulliez, et C. Tourte-Schaffer.

Tiré à part N° 5475

qui emploient surtout des antigènes solubles d'origine cytoplasmique. Cela a conduit certains fabricants à proposer des unités propres à leur réactif: unité ELISA, densité optique ou indice. Il en résulte une certaine confusion pour les biologistes amenés à effectuer des tests comparatifs sur des sérums séquentiels, et pour les médecins prescripteurs, plus habitués à un système de quantification homogène entre les laboratoires.

En raison de l'importance croissante prise par les réactions ELISA dans la pratique des laboratoires et de la diversité de conception des trousse commercialisées, nous avons effectué une étude comparative entre différentes trousse ELISA dans le but de préciser les relations entre les titres obtenus par ces techniques et celui défini en unités internationales. Des comparaisons de différentes trousse ELISA-IgG ont déjà fait l'objet d'évaluations antérieures pour la toxoplasmose (5-7) mais nous avons pu étendre ces études grâce à une collaboration entre le groupe d'experts du Contrôle National de Qualité en Parasitologie (CNQP) et le Syndicat des Fabricants de Réactifs de Laboratoire (SFRL), représentant un nombre important de fabricants de trousse ELISA.

Matériel et méthodes

Sérums

Cinquante et un échantillons constitués de mélanges de sérums ($n = 42$) ou de sérums individuels ($n = 9$) ont été étudiés. Tous ont fait l'objet d'un titrage préalable par le groupe d'experts du CNQP. Les titrages ont été effectués par réaction de lyse, immunofluorescence, agglutination directe (avant et après 2-mercapto-éthanol), agglutination sensibilisée, latex sensibilisé, hémagglutination et ELISA. Un titre en unités internationales (UI/ml) a été établi pour chacun des sérums étudiés à partir des résultats de l'immunofluorescence (4), le seuil de positivité retenu étant de 8 UI/ml (8). Des échantillons de 1 millilitre ont été conservés lyophilisés en flacon et affectés d'un numéro de code.

Un flacon de chaque échantillon lyophilisé a été adressé à tous les fabricants participant à l'étude. Pour une première étude, 37 échantillons constitués de mélanges de sérums ont été envoyés, dont 9 négatifs et 28 positifs, de titre compris entre 9 et 900 UI/ml. Une deuxième étude comportait 21 échantillons de mélanges de sérums (2 négatifs et 19 positifs, de titre compris entre 4 et 800 UI/ml) et 9 sérums individuels positifs (titre compris entre 16 et 1136 UI/ml). Sept mélanges de sérums positifs (titre compris entre 9 et 500 UI/ml) ont été envoyés dans les deux études, affectés de numéros de code différents.

Méthodes

Les fabricants de réactifs de laboratoire suivants ont participé à cette étude: Abbott, Behring, Bio-Mérieux, Biotrol, Boehringer, Clonatec, Diagast, Immunotech, Kone Instruments, Merck Clevenot, Organon Technika, PBS Organics, Produits Roche, Sanofi Diagnostics Pasteur, Serono Diagnostic SNC, Syva France SNC.

Quatorze fabricants ont participé à la première étude (16 trousse), 15 à la deuxième (16 trousse); 11 ont participé aux deux études. Le SFRL a assuré la coordination entre les différents participants et le CNQP: il s'est chargé de la distribution des sérums auprès des fabricants et de la collecte des résultats obtenus.

Il était demandé à chaque fabricant d'effectuer un titrage de chaque sérum en unités, et de préciser si le sérum devait être considéré comme positif ou négatif, en fonction du seuil de sa technique. Lorsqu'un sérum à titre élevé donnait une valeur ELISA sortant de la gamme standard de la trousse, il devait être repris après dilution pour obtenir un titrage défini en unités.

Traitement des résultats. Chaque fabricant a transmis ses résultats au SFRL qui a affecté à chaque trousse ELISA un code permettant de préserver l'anonymat au cours de l'analyse des résultats. Les données codées ont été transmises au CNQP pour analyse. L'ensemble des résultats présentés ci-après ne mentionne que des données codées.

Analyse statistique. Une première analyse a décrit la distribution des titres en unités, obtenus avec les différentes trousse en fonction du titre défini en UI par le CNQP.

Dans une deuxième analyse, les résultats de chaque trousse ont été comparés aux valeurs moyennes calculées sur l'ensemble des fabricants par une analyse de régression simple. Celle-ci a permis d'estimer pour chaque fabricant les paramètres de la droite de régression:

$$y = (m \pm SE_m).x + (b \pm SE_b)$$

où y = mesure observée pour une trousse donnée

x = moyenne des mesures observées sur l'ensemble des trousse

m = pente de la droite; SE_m = écart type de m

b = ordonnée à l'origine; SE_b = écart type de b

Un intervalle de confiance regroupant 95% des fabricants a été défini à partir de la moyenne ± 2 écarts types des valeurs de m et de b des différentes trousse. La signification statistique de la différence par rapport à la moyenne des valeurs de m et de b

estimées pour un fabricant donné a été calculée par le test t.

Résultats

Les deux études sérologiques ont été réalisées de façon séquentielle entre octobre 1990 et juin 1992. Elles ont fait l'objet d'une analyse individuelle et descriptive permettant de déterminer la valeur seuil entre les sérums négatifs et positifs pour chaque trousses, et d'une analyse de régression destinée à évaluer la dispersion des résultats entre les différents réactifs, pour l'ensemble des sérums positifs.

Première étude sérologique

Sérums négatifs (n = 9). Les résultats des ELISA sont compris entre 0 et 31 unités suivant les trousse. Avec l'une d'entre elles, tous les sérums négatifs sont constamment trouvés supérieurs à 20 unités; avec toutes les autres, les sérums sont trouvés entièrement négatifs (0 unité), ou ayant un nombre d'unités inférieur au seuil de positivité indiqué par le fabricant.

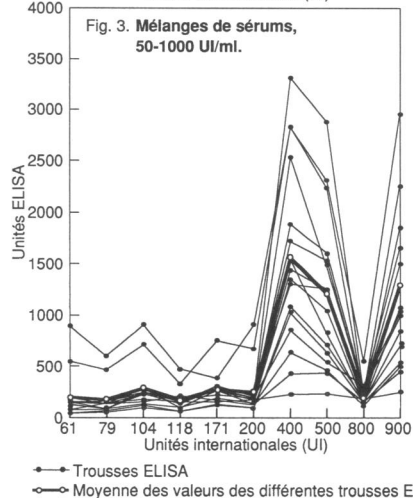
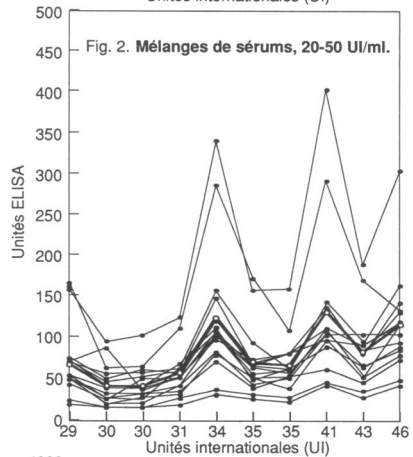
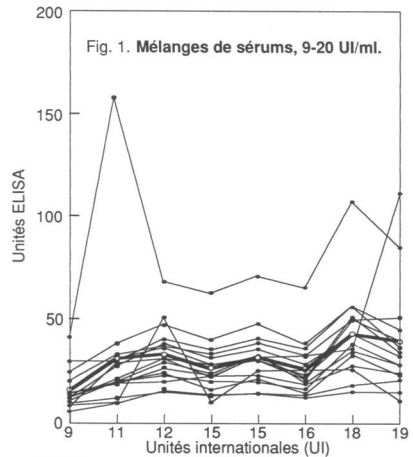
Sérums positifs (n = 28). L'analyse descriptive générale de l'ensemble des sérums montre une assez bonne homogénéité des résultats entre 9 et 200 UI mais une grande dispersion des résultats suivant les trousse pour des titres plus élevés. Entre 9 et 20 UI (8 sérums) tous les sérums ont été trouvés positifs avec les différentes trousse; dans deux cas le résultat était considéré comme «douteux», proche de la valeur seuil de la trousses. La moyenne générale des résultats en ELISA est de $29,3 \pm 16,8$ unités, pour une valeur moyenne de $13,7 \pm 3,1$ UI en immunofluorescence. L'ensemble des résultats apparaît assez homogène pour les différentes trousse, à l'exception d'une seule, dont les résultats sont compris entre 41 et 158 unités (Fig. 1).

Entre 20 et 50 UI (10 sérums), tous les résultats ont été trouvés positifs. Comme dans le groupe précédent, les titres obtenus en ELISA (moyenne = $77,7 \pm 32,2$ unités) sont généralement plus élevés que ceux définis en UI (moyenne = $35,4 \pm 5,9$ UI) (Fig. 2). Deux trousse obtiennent cependant des valeurs très nettement écartées de l'ensemble des autres.

Entre 50 et 200 UI (6 sérums), on note également un surtitrage par la méthode ELISA (moyenne = $211,8 \pm 47$ unités) par rapport au titrage en UI (moyenne = $122,2 \pm 53,6$ UI). Des valeurs très supérieures sont obtenues avec deux trousse (moyenne = 682,5 unités et 568,2 unités) (Fig. 3).

Au-delà de 200 unités (4 sérums), il existe une dispersion extrêmement importante des résultats ne

Fig. 1–3. Répartition des titres obtenus en ELISA en fonction du titre défini en unités internationales pour les différentes trousse.



—•— Trousse ELISA
—○— Moyenne des valeurs des différentes trousse ELISA

permettant aucune analyse (Fig. 3). On note en particulier une discordance importante entre les résultats obtenus en ELISA et ceux exprimés en UI pour un sérum titrant 800 UI et contenant des IgM à titre élevé.

Une seconde analyse a été réalisée après extraction des valeurs données par deux trouses dont les résultats sont faussement positifs ou anormalement surtitrés par rapport aux autres. Pour les titres compris entre 9 et 200 UI, on observe alors une meilleure homogénéité des réponses avec les différentes trouses ELISA, mais l'ensemble apparaît globalement surtitré comparativement aux valeurs en UI. Le rapport entre la valeur moyenne des titres en unités ELISA et la valeur moyenne en UI est de 1,5 (compris entre 1,4 et 1,87 suivant les classes de positivité). L'application de ce facteur permet de «corriger» en partie le surtitrage pour tous les sérums positifs, sans affecter la sensibilité pour les titres faibles.

L'analyse de régression permet cependant de mieux préciser les caractéristiques de chaque trousse sur l'ensemble des sérums positifs de titre ≤ 250 unités. Le tableau 1 présente les résultats individuels pour tous les fabricants, avec mention des écarts types de la pente m et de l'ordonnée b ; l'ensemble des droites est présenté figure 4. Pour certaines trouses, les pentes obtenues sont significativement inférieures (m^-) ou significativement supérieures (m^+) à la moyenne des fabricants. L'écart type de

cette pente permet d'estimer la dispersion des résultats sur la gamme des sérums étudiés. Le facteur b représente l'ordonnée à l'origine. Pour les faibles titres, sa valeur permet d'estimer le risque potentiel de sous-titrage lorsqu'elle est significativement plus faible par rapport à la moyenne du fabricant (b^-) ou de surtitrage lorsqu'elle est plus élevée (b^+). Il apparaît que deux fabricants ont une valeur de b trop faible, et que l'un a une valeur de b significativement plus élevée.

L'analyse de la droite de régression des résultats définis en UI/ml par le CNQP montre que pour les valeurs de m comme pour celles de b , il n'y a pas de différence significative par rapport aux ELISA, bien que la valeur de la pente m soit plus basse (reflet du «surtitrage» des ELISA par rapport aux UI).

Deuxième étude sérologique

Sérums négatifs ($n = 2$). Ces deux sérums entièrement négatifs ont été trouvés négatifs avec les 16 trouses étudiés.

Sérums positifs ($n = 28$). Des sérums à titre faible ont donné des résultats variables suivant les réactifs. Un sérum titrant 16 UI a été trouvé positif avec 15 trouses et douteux avec une trousse. Un sérum titrant 4 UI (considéré comme «douteux») a été trouvé négatif avec 8 trouses; un sérum titrant 9 UI a été trouvé négatif avec 4 trouses.

Tableau 1: Première étude sérologique: mélanges de sérums de titre compris entre 9 et 250 unités/ml (20 sérums).

Paramètres des droites de régression $y = mx + b$. Pour chaque trousse, les valeurs de la pente m et de l'ordonnée à l'origine b sont comparées aux valeurs moyennes obtenues avec l'ensemble des trouses. Les valeurs significativement supérieures à la moyenne sont indiquées m^+ ou b^+ . Les valeurs significativement plus faibles sont indiquées m^- et b^- .

CNQP: Contrôle National de Qualité en Parasitologie (droite établie à partir des valeurs en unités internationales déterminées par immunofluorescence).

NS: non significatif.

Trouses ELISA	m			b		
	Valeur	Ecart type		Valeur	Ecart type	
B3T1	1,2	0,52	NS	- 2,9	4,7	NS
B3T2	1,2	0,41	NS	-16,0	3,8	b^-
C10	0,8	0,06	NS	+10,2	5,8	NS
E13	1,1	0,85	NS	+ 2,6	7,7	NS
F12	0,7	0,25	m^-	+ 2,0	2,2	NS
G2	0,5	0,24	m^-	- 3,5	2,2	NS
H8	1,1	0,09	NS	+ 4,6	8,2	NS
J4	0,9	0,10	NS	+ 6,4	6,4	NS
K7	0,8	0,06	NS	+24,8	5,4	b^+
L5	1,3	0,05	m^+	+ 3,0	4,7	NS
M14	1,2	0,07	NS	-20,8	6,2	b^-
N6	1,1	0,05	NS	+11,4	4,7	NS
PIM1	0,7	0,08	m^-	- 7,1	7,1	NS
PIM2	1,3	0,45	m^+	-14,9	4,2	NS
Droite CNQP	0,8	0,10	NS	- 6,9	9,2	NS

Pour les autres sérums positifs ≥ 9 UI, les traitements statistiques utilisés dans la première étude ont été appliqués en différenciant les mélanges de sérums des sérums individuels. L'analyse descriptive a montré une bonne homogénéité des résultats entre les différents participants et toutes les données ont été prises en compte. Tout comme pour la première étude sérologique, une dispersion importante est observée pour les titres supérieurs à 200 UI, aussi bien pour les mélanges de sérums que pour les sérums individuels.

L'analyse par régression a été effectuée pour les sérums individuels et pour les mélanges de sérums positifs ayant des titres ≤ 240 unités (Tableau 2, Fig. 5 et 6). Malgré quelques différences, des résultats assez comparables sont obtenus sur les mélanges de sérums et les sérums individuels montrant que dans cette gamme de titres, cette analyse peut être réalisée indifféremment sur les deux types d'échantillons. On note cependant que les valeurs des écarts types de b sont plus élevées que dans la première étude, probablement en raison du nombre plus limité de sérums étudiés (7 sérums individuels compris entre 30 et 240 unités et 17 mélanges de sérums compris entre 30 et 240 unités). Pour la plupart des fabricants ayant participé aux deux études, la correspondance entre les résultats est bonne, à l'exception peut être d'un fabricant (C10) pour lequel les valeurs apparaissent plus nettement surtitrées dans la deuxième étude que dans la première.

La comparaison des valeurs obtenues pour les sérums envoyés dans les deux études montre une bonne reproductibilité (Tableau 3); cette analyse est cependant limitée par le petit nombre de sérums étudiés et le faible nombre de répétitions.

Discussion

La collaboration qui a pu être établie entre le groupe de travail toxoplasmose du Contrôle National de Qualité en Parasitologie et le Syndicat des Fabricants de Réactifs de Laboratoire a permis de réaliser une étude comparative portant sur un grand nombre de trousses ELISA, avec une batterie importante de sérums positifs et négatifs. L'analyse descriptive des résultats obtenus a permis de préciser la valeur seuil (positive/négative) pour les différentes trousses et la reproductibilité des résultats. L'analyse par régression a défini des paramètres propres à chaque trousses permettant d'effectuer une comparaison plus rigoureuse entre les différents ELISA, en mesurant la dispersion des résultats concernant les sérums positifs par rapport à une droite résumant l'ensemble des valeurs obtenues avec toutes les trousses ELISA.

Les sérums négatifs sont trouvés dépourvus d'anticorps ou contenant des titres non significatifs

Fig. 4-6. Droites de régression pour chaque trousses ELISA. (Abscisse: valeur moyenne des ELISA; ordonnée: valeur individuelle pour chaque trousses. L'aire grisée est définie par les valeurs extrêmes de la moyenne de m et de b, calculées avec un intervalle de confiance à 95%.)

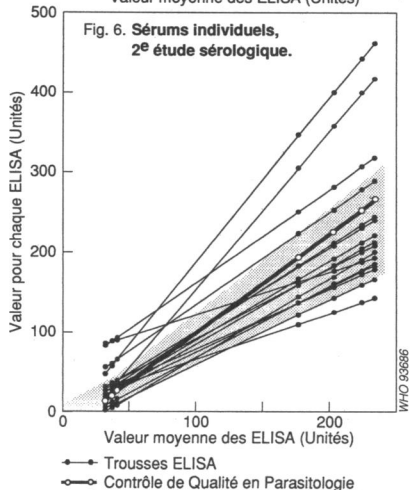
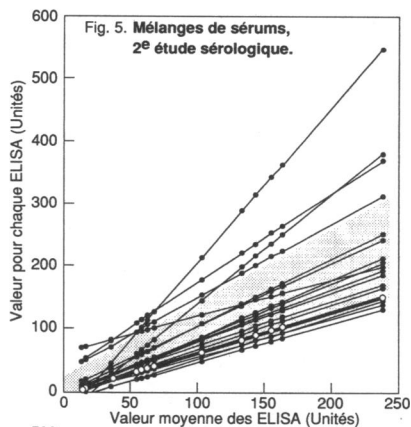
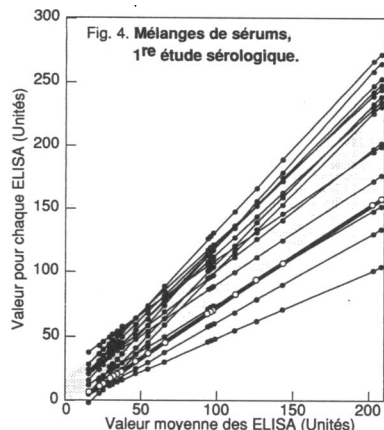


Tableau 2a: Deuxième étude sérologique: mélanges de sérums de titre compris entre 12 et 240 unités/ml (17 sérums).

Paramètres des droites de régression $y = mx + b$. Pour chaque trousse, les valeurs de la pente m et de l'ordonnée à l'origine b sont comparées aux valeurs moyennes obtenues avec l'ensemble des trousse. Les valeurs significativement supérieures à la moyenne sont indiquées **m+** ou **b+**. Les valeurs significativement plus faibles sont indiquées **m-** et **b-**.

CNQP: Contrôle National de Qualité en Parasitologie (droite établie à partir des valeurs en unités internationales déterminées par immunofluorescence).

NS: non significatif.

Trousse ELISA	m			b		
	Valeur	Ecart type		Valeur	Ecart type	
B3	1,1	0,05	NS	+ 3,2	5,9	NS
C10	2,5	0,29	m+	-41,2	33,6	NS
E13	1,0	0,11	NS	+ 3,1	12,3	NS
F12	0,7	0,05	NS	- 3,1	6,1	NS
G2A	0,6	0,05	NS	-15,4	5,6	NS
G2B	0,6	0,05	m-	- 5,9	6,2	NS
H8	1,4	0,14	NS	+29,9	16,7	NS
K7	0,9	0,04	NS	- 9,0	5,4	NS
L5	1,2	0,08	NS	+31,0	9,7	b+
M14	0,9	0,07	NS	- 5,5	8,2	NS
N6	1,7	0,20	m+	-34,9	22,6	NS
O34	0,6	0,09	NS	+54,5	10,1	b+
P1	0,6	0,13	NS	-13,6	15,1	NS
R17	0,7	0,08	NS	+ 2,5	9,7	NS
S21	0,8	0,12	NS	+ 1,0	14,2	NS
V15	0,7	0,06	NS	+ 2,2	7,3	NS
Droite CNQP	0,6	0,15	NS	- 4,2	16,0	NS

Tableau 2b: Deuxième étude sérologique: sérums individuels de titre compris entre 30 et 240 unités/ml (7 sérums).

Trousse ELISA	m			b		
	Valeur	Ecart type		Valeur	Ecart type	
B3	1,1	0,01	NS	- 8,7	2,5	NS
C10	2,0	0,73	NS	-14,7	119,5	NS
E13	0,8	0,24	NS	+ 4,5	39,6	NS
F12	0,8	0,12	NS	- 4,2	19,6	NS
G2A	0,8	0,15	NS	-18,8	25,6	NS
G2B	0,8	0,12	NS	-17,7	19,7	NS
H8	1,1	0,25	NS	+46,2	40,7	NS
K7	0,9	0,14	NS	- 8,5	22,9	NS
L5	1,1	0,12	NS	+19,8	20,7	NS
M14	0,9	0,18	NS	- 8,8	30,3	NS
N6	1,9	0,18	m+	-40,5	30,6	NS
O34	0,5	0,05	m-	+68,5	9,5	b+
P1	0,9	0,41	NS	-29,4	66,7	NS
R17	0,7	0,30	NS	+ 4,9	50,1	NS
S21	1,0	0,11	NS	- 1,6	19,4	NS
V15	0,5	0,04	m-	+ 9,1	6,8	NS
Droite CNQP	1,2	0,57	NS	-26,7	92,5	NS

pour 15 des 16 trousse dans la première étude: les résultats sont dits «négatif» (0 unité) ou «inférieur à» un seuil défini pour chaque trousse. Ce dernier mode d'expression d'un résultat négatif nous semble prêter à confusion car un sérum trouvé <12 unités et considéré comme négatif par un fabricant dont le seuil est à 12 unités, peut être abusivement considéré comme positif avec d'autres techniques dont le seuil est plus

bas. Pour éviter toute erreur d'interprétation, il serait indispensable de mentionner très clairement le seuil de positivité dans l'expression des résultats ou d'adopter un seuil de positivité commun à toutes les trousse ELISA.

Pour les sérums positifs, les résultats des deux études montrent une bonne homogénéité des valeurs obtenues avec différentes trousse ELISA-IgG pour

Tableau 3: Comparaison des valeurs obtenues en ELISA (unités/ml) pour 7 sérums examinés dans les 2 études sérologiques

N° des sérums	Titres (unités)			
	1 ^{re} étude		2 ^e étude	
	Moyenne	Ecart type	Moyenne	Ecart type
E15	16	9	17	9
5281	121	81	104	64
4281	129	97	103	105
E8	160	102	154	93
E14	220	217	154	61
E7	1177	760	1161	613
E1	1416	854	1626	728

des titres d'anticorps <200 UI/ml, mais il apparaît clairement que la plupart des ELISA donnent des titres plus élevés que ceux établis en UI par immunofluorescence. Ce surtitrage, observé dans les deux études, est à peu près constant pour tous les sérums testés, et l'introduction d'un facteur de correction peut représenter une solution simple pour comparer les résultats obtenus par immunofluorescence et par ELISA. Globalement, cette bonne homogénéité des différents ELISA entre eux et cette bonne concordance (à un facteur de correction près) avec les tests utilisant des antigènes membranaires, semblent tout à fait favorables à l'utilisation ou à l'adoption d'unités communes aux différentes trousse ELISA. La nature des complexes antigéniques utilisés dans les ELISA se présentait à priori comme la difficulté majeure d'une telle conversion, dans la mesure où ils impliquaient essentiellement des extraits cytoplasmiques alors que l'immunofluorescence ou le test de lyse révèlent des anticorps avant tout dirigés contre la membrane du parasite. L'évolution des préparations antigéniques, qui maintenant incluent une plus grande part d'antigènes membranaires, explique probablement la bonne concordance que nous observons.

Pour les titres élevés, la discordance avec les UI et la dispersion des résultats des ELISA restent importantes, et peuvent être liées à trois facteurs complémentaires:

a) la présence d'IgM non dosées par les ELISA spécifiques des IgG, mais qui sont prises en compte dans le titrage en UI par le test de lyse ou l'immunofluorescence utilisant un conjugué anti-immunoglobulines totales. Il est à noter que l'étalon international actuel contient également des IgM spécifiques.

b) la spécificité des anticorps produits lors des stades précoces de l'infection (9). Dans ce cas, la sensibilité individuelle de telle ou telle trousse peut être différente en fonction de la nature de l'antigène utilisé pour la sensibilisation du support.

c) l'affinité des anticorps, qui joue un rôle majeur dans les réactions de type ELISA et diffère sensiblement en fonction du stade de la maladie (10).

Ces paramètres n'ont pu être que très partiellement analysés dans le cadre de la deuxième étude, en utilisant des sérums à titre élevé provenant de mélanges de sérums ou de sérums individuels. Bien qu'aucune différence significative n'ait pu être mise en évidence entre les résultats obtenus avec les mélanges et avec les sérums individuels, il serait souhaitable d'envisager de compléter cette étude avec des sérums d'infection très récente, ce qui permettrait de sélectionner des trousse aptes à la détection d'anticorps précoces.

Enfin, la répétition de plusieurs échantillons dans les deux études semble montrer une bonne reproductibilité sur une gamme de titres relativement large; ce fait, très important, pour la «confiance» que l'on peut accorder aux réactifs ELISA doit être confirmé et approfondi par des tests répétés. L'établissement par le CNQP d'une batterie d'étalonnage commune incluant des sérums de titre compris entre 0 et 300 UI d'IgG spécifiques est envisagé. La poursuite de ce travail suppose une collaboration constante entre le SFRL et le CNQP pour envisager dans les années à venir un test annuel sur un mélange de sérums, et l'analyse des résultats obtenus suivant des modalités comparables à celles que nous avons définies dans cette étude. Une telle approche nous semble bénéfique pour les fabricants qui peuvent ainsi suivre l'évolution de leurs réactifs et pour les utilisateurs qui pourront trouver dans ces analyses répétées un contrôle de qualité indispensable à la sécurité de la pratique de la biologie médicale. Enfin, l'approche méthodologique mise au point dans cette étude pourrait être étendue à d'autres pays pratiquant un contrôle de qualité de la sérologie toxoplasmique, notamment dans le cadre de la constitution d'un réseau européen de recherche et de prévention concernant la toxoplasmose congénitale et la toxoplasmose au cours du SIDA.

Summary

Multicentre study on serological testing for toxoplasmosis using various commercial ELISA reagents

A collaborative study conducted by the French National Agency for Quality Control in Parasitology (CNQP) and various manufacturers of ELISA kits, represented by the Association of Laboratory Reagent Manufacturers (SFRL) compared the toxoplasmosis IgG antibody titres obtained with

different ELISA-IgG kits and determined the relationships between the titres obtained by these techniques and the titre defined in international units (IU). Fifty-one serum samples with toxoplasmosis antibody titres ranging from 0 to 900 IU were tested in two successive studies with 16 ELISA-IgG kits. For the negative sera, false-positive reactions were observed with one kit. For the positive sera, the titres observed in ELISA were generally higher than those expressed in IU. Above 250 IU, the very wide variability of the titres found with the different ELISA kits renders any comparative analysis impossible. For titres below 250 IU, the results are sufficiently homogeneous to permit the use of regression analysis to study how the results for each ELISA kit compare with the mean results for the other kits. The slope of the line of regression shows a tendency to over-titration or under-titration compared with the results of the other manufacturers; the ordinate at the origin reflects the positivity threshold of the reaction and can be used to assess the risk of a lack of sensitivity (high threshold) or of specificity (threshold too low). On the whole, the trends revealed for a given manufacturer are constant from one study to the other. Within this range of titres, regression analysis also reveals the general tendency of ELISA kits to overestimate the titres by comparison with immunofluorescence. This collaborative study, using a set of selected sera and a simple method of analysis, made it possible to propose a new approach to standardizing the various ELISA kits.

Bibliographie

1. **Desmonts G & Couvreur J.** *Toxoplasmosis. In: Current Diagnosis.* Philadelphia, W.B. Saunders Inc., 1985, **7**: 274–287.
2. **Derouin F et al.** Intérêt et limites de la sérologie de la toxoplasmosse chez les sujets HIV+. *Pathologie Biologie*, 1991, **39**: 255–259.
3. **Comité OMS d'experts de la Standardisation biologique.** Vingtième rapport. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1968, *Série de Rapports techniques* N° 384.
4. **Niel G et al.** Immunofluorescence quantitative et diagnostic sérologique de la toxoplasmosse: introduction des unités internationales dans l'expression des positivities. *Pathologie Biologie*, 1973, **21**: 157–161.
5. **Wilson M et al.** Evaluation of commercial serodiagnostic kits for toxoplasmosis. *Journal of clinical microbiology*, 1987, **25**: 2262–2265.
6. **Carlier Y et al.** Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and other serological tests for the diagnosis of toxoplasmosis. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 1980, **58**: 99–105.
7. **Joynson DHM et al.** Five commercial enzyme linked immunosorbent assay kits for *Toxoplasma* specific IgM antibody. *Journal of clinical pathology*, 1989, **42**: 653–657.
8. *Annales du Contrôle de Qualité National. Parasitologie.* Mars 1983: 37–39.
9. **Potasman I et al.** Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens recognized by human sera obtained before and after acute infection. *Journal of infectious diseases*, 1986, **154**: 650–657.
10. **Hedman K et al.** Recent primary infection indicated by a low avidity of specific IgG. *Journal of infectious diseases*, 1989, **159**: 736–740.