

ISSN 0778-8371

ISP

Rue J. Wytsman, 14
B-1050 BRUXELLES

SERVICE PUBLIC FEDERAL, SANTE PUBLIQUE, SECURITE DE LA CHAINE
ALIMENTAIRE ET ENVIRONNEMENT
COMMISSION DE BIOLOGIE CLINIQUE

SERVICE DES LABORATOIRES DE BIOLOGIE CLINIQUE
COMITE DES EXPERTS

RAPPORT ANNUEL 2007

**EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE
DES ANALYSES EN BIOLOGIE CLINIQUE**

MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE/PARASITOLOGIE

Tous les rapports sont également à consulter sur notre site web :
http://www.iph.fgov.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_annee.htm

ISP/2007/Micro./Sero./Para. 70

COMITE DES EXPERTS EN MICROBIOLOGIE/SEROLOGIE

ISP (secrétariat) : 02/642.55.21 - FAX : 02/642.56.45
(Dr. K. VERNELEN) : 02/642.55.29 – FAX : 02/642.56.45
(Coordinateur) : e-mail : k.vernelen@iph.fgov.be
Dr. BODEUS Monique : 02/764.67.31 - FAX : 02/764.69.33
: e-mail : bodeus@mblg.ucl.ac.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/240.36.45 – FAX : 09/240.36.59
: e-mail : geert.claeys@ugent.be
Dr. DE BEENHOUWER Hans : 053/72.42.72 – FAX : 053/72.45.88
: e-mail : hans.de.beenhouwer@olvz-aalst.be
Dr. DE GHELDRE Yves : 02/340.41.34 – FAX : 02/340.41.79
: e-mail : yves.degheldre@chirec.be
Dr. DEDISTE Anne : 02/535.45.42
: e-mail : anne_dediste@stpierre-bru.be
Dr. DELFORGE Marie-Luce : 02/555.34.53 – FAX : 02/555.64.59
: e-mail : mdelforg@ulb.ac.be
Dr. LAGROU Katrien : 016/34.70.98 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : katrien.lagrou@uz.kuleuven.ac.be
Apr. LONTIE Marc : 016/31.01.72 – FAX : 016/31.01.88
: e-mail : marc.lontie@mchlvwo.be
Dr. LUYASU Victor : 010/43.73.30 - FAX : 010/43.71.88
: e-mail : victor.luyasu@skynet.be
Dr. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@virgajesse.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PIERARD Denis : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : denis.pierard@uzbrussel.be
Dr. REYNDERS Marijke : 02/535.45.35 – FAX : 02/535.46.56
: e-mail : marijke_reynders@stpierre-bru.be
Dr. VAN ESBROECK Marjan : 03/247.64.37 – FAX : 03/247.64.40
: e-mail : mvesbroeck@itg.be
Dr. VERHAEGEN Jan : 016/34.70.73 – FAX : 016/34.79.31
: e-mail : jan.verhaegen@uz.kuleuven.ac.be
Dr. WOESTYN Sophie : 056/85.58.85 – FAX : 056/85.58.86
: e-mail : sophie.woestyn@skynet.be

Table des matières

I.	Microbiologie.....	1
1.1	Rapport de l'identification des cultures.....	1
1.1.1.	Répartition des résultats par échantillon.....	1
1.1.2.	Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.....	3
1.2.	Evaluation des tests de sensibilité.....	4
1.2.1.	Bacteroides fragilis M/7021.....	4
1.2.2.	Escherichia coli M/7253	7
1.2.3.	Pseudomonas aeruginosa, métallo- β -lactamase (VIM-1) M/7295 et Pseudomonas aeruginosa, métallo- β -lactamase (SPM-1) M/7298	9
1.2.4.	Staphylococcus aureus M/7758	12
1.2.5.	Klebsiella pneumoniae M/7759	14
II.	Parasitologie.....	17
2.1.	Enquête 1	17
2.2.	Enquête 2.....	18
2.3.	Enquête 3.....	19
2.4.	Utilisation du Toolkit.....	20
III	Sérologie infectieuse.....	21
3.1.	La borréliose.....	21
3.2.	La rubéole.....	23
3.3.	L'hépatite A	26
3.4.	L'hépatite B.....	28
3.5.	La syphilis.....	30
3.6.	La Brucella.....	32
3.7.	VIH	34
IV	Le rejet des échantillons non-conformes.....	36

I. MICROBIOLOGIE

Trois enquêtes ont été organisées en 2007 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 186 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 3 laboratoires (1.6%) ont participé à 1 enquête, 3 laboratoires (1.6%) ont participé à 2 enquêtes et 180 (94.7%) ont participé aux 3 enquêtes. 1 laboratoire a cessé ses activités et 2 se sont inscrits tardivement. La participation des laboratoires s'élève à 182, 184 et 183 pour chacune des enquêtes. Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 117 laboratoires hospitaliers, 52 laboratoires privés, 5 laboratoires de polycliniques et 12 autres laboratoires.

1.1. Rapport de l'identification des cultures

1.1.1. Répartition des résultats par échantillon

Les participants ont reçu 9 échantillons lyophilisés et 4 échantillons cliniques (4 échantillons de selles).

Les identifications exactes et acceptables ont été mentionnées dans chaque rapport global avec une courte description des caractéristiques des germes.

Dans la 1^e enquête 3 échantillons de selles ont été envoyés pour exécution de la culture et détermination de la toxine de *C. difficile*. L'échantillon M/7103 ne contenait pas de *Clostridium*, M/7104 contenait un *C. difficile* et M/7274 un *C. non-difficile* (*C. perfringens*). La différence entre les réponses correctes pour d'un côté les échantillons M/7103 et M/7104 et de l'autre côté l'échantillon M/7274 (cfr. tableau 1.1) peut être expliqué par le fait qu'un certain nombre de laboratoires ont répondu « positif » pour ce 3^e échantillon sans spécifier le *Clostridium* species.

Lors de la 2^e enquête 2 *P. aeruginosa* avec un antibiogramme différent ont été envoyés: M/7295 contenait un métallo- β -lactamase type Vim-1 et M/7298 un métallo- β -lactamase type SPM-1.

Une souche a été envoyée dans un but didactique. Cet échantillon n'a donc pas été pris en compte dans l'évaluation. Il s'agissait du *Salmonella diarizonae* (selles) de la 2^e enquête.

Pour le *Bacteroides fragilis* (hémoculture ; enquête 2007/1) une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante.

Tableau 1.1.1. Répartition des résultats par échantillon. L'origine de chaque germe est mentionnée entre parenthèses.

Germe	% d'identifications acceptables
Echantillon négatif pour <i>Clostridium difficile</i> (selles)	95.3
<i>Clostridium difficile</i> (selles)	93.2
<i>Clostridium non-difficile</i> (selles)	84.3
<i>Bacteroides fragilis</i> (hémoculture)	93.2
<i>Escherichia coli</i> (urine)	100.0
<i>Candida albicans</i> + <i>Candida krusei</i> (hémoculture)	84.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	97.8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	98.4
<i>Listeria monocytogenes</i> (liquide céphalo-rachidien)	93.4
<i>Streptococcus agalactiae</i> (expectoration)	96.7
<i>Staphylococcus aureus</i> (pus)	99.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (urine)	97.8

Les résultats pour la détermination de la toxine de *C. difficile* étaient respectivement:

- M/7103 (négatif): 98.7% réponses correctes
- M/7104 (positif): 97.7% réponses correctes
- M/7274 (négatif): 98.7% réponses correctes

En plus de ces échantillons pour les cultures, nous avons également envoyé un frottis d'une hémoculture, qui contenait des bacilles à Gram négatif (*E. coli*). 79.2% des laboratoires ont correctement identifié ces bacilles à Gram négatif; 1.6% ont suspecté en outre des bacilles à Gram négatif la présence de coques à Gram négatif; 1.1% ont suspecté en outre des bacilles à Gram négatif la présence de germes à Gram positif. Il est à noter que 9.8% des laboratoires n'ont mentionné que des Gram positifs; nous avons conseillé à ces laboratoires et à un laboratoire qui n'avait pas retrouvé de germes d'analyser leur méthode pour la coloration Gram.

1.1.2. Répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables

Chaque laboratoire a dû réaliser 12 identifications, 120 (64.5%) laboratoires ont donné des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications, 66 (35.5%) laboratoires ont *mentionné* des identifications inacceptables. Le tableau ci-dessous reproduit la répartition des laboratoires suivant le nombre d'identifications inacceptables.

Tableau 1.1.2. Nombre d'identifications inacceptables (sans les «non-réponses»).

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires (N = 186)
0	120 (64.5%)
1	47 (25.3%)
2	18 (9.7%)
3	1 (0.5%)

Si nous ajoutons aux résultats considérés comme inacceptables les « non-réponses » sans explication (inscription tardive, arrêt des activités, sous-traitance de certains types d'échantillon au laboratoire), nous obtenons les résultats suivants.

Tableau 1.1.3. Nombre d'identifications inacceptables (avec les «non-réponses»).

Nombre d'identifications inacceptables	Nombre de laboratoires (N = 186)
0	118 (63.4%)
1	45 (24.2%)
2	18 (9.7%)
3	1 (0.5%)
4	1 (0.5%)
5	2 (1.1%)
6/7/8	-
9	1 (0.5%)

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes : *Bacteroides fragilis* M/7021, *Escherichia coli* M/7253, *Pseudomonas aeruginosa*, métallo- β -lactamase VIM-1 M/7295, *Pseudomonas aeruginosa*, métallo- β -lactamase SPM-1 M/7298, *Staphylococcus aureus* M/7758 et *Klebsiella pneumoniae* M/7759 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

1.2.1. *Bacteroides fragilis* M/7021

Cette souche a clairement démontré que l'exécution d'un antibiogramme pour anaérobies n'est pas évidente. En effet, tandis que **180 laboratoires ont effectué l'identification** (même si quelques laboratoires n'ont pas réussi à faire pousser la souche), il n'y avait **que 138 laboratoires qui ont déterminé l'antibiogramme**.

La plupart des laboratoires n'ayant pas effectué d'antibiogramme pour cette souche, ont mentionné ne pas en effectuer en routine pour les anaérobies (et envoyer au besoin de tels échantillons pour détermination de l'antibiogramme; un laboratoire a mentionné explicitement que la diffusion sur disque n'est pas valable mais qu'il faut effectuer la détermination d'une CMI). Un laboratoire a fourni la remarque suivante: « Nous n'effectuons pas d'antibiogramme pour les anaérobies. Nous prenons contact par téléphone avec le médecin traitant. D'habitude il s'agit d'une infection polymicrobienne pour laquelle les antibiotiques suivants sont conseillés : la pipéracilline-tazobactam, l'amoxicilline-acide clavulanique ou l'imipenem. » Un laboratoire n'effectuant pas d'antibiogramme pour anaérobies en routine, a néanmoins mentionné que la souche contenait une β -lactamase.

Les laboratoires n'ayant pas obtenu de croissance ou ayant déclaré que l'échantillon était contaminé, n'ont évidemment pas pu effectuer l'antibiogramme; il y avait également 3 laboratoires qui ont mentionné que la croissance qu'ils ont obtenue leur a permis d'identifier le germe mais était insuffisante pour l'exécution de l'antibiogramme.

Cette souche était sensible à la métronidazole mais résistante à la clindamycine et à l'amoxicilline-acide clavulanique.

Il est à remarquer que la plupart des laboratoires ont fourni de résultats corrects pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, même si la majorité a utilisé la méthode de diffusion sur disque. Néanmoins cette technique est déconseillée par le CLSI. A côté d'un test de β -lactamase, prédictif pour la sensibilité aux pénicillines, cette institution ne décrit que la méthode de dilution en agar comme technique de référence et une technique de microdilution pour les micro-organismes à croissance rapide. Cependant ces techniques ne sont pas utilisables dans un laboratoire de routine. Les alternatives

sont limitées et ont été discutées dans le commentaire, publié dans le rapport global de l'enquête.

Même si les infections d'anaérobies sont traitées empiriquement sur base de leur sensibilité très prévisible, il est important que les laboratoires disposent de tests de sensibilité étant donné que de nouveaux mécanismes de résistance commencent à surgir et qu'il a été prouvé que la résistance des anaérobies s'accompagne d'un mauvais pronostic.

Presque tous les *Bacteroides* du groupe BAF produisent une β -lactamase et sont résistants aux pénicillines; le CLSI propose de rapporter la pénicilline et l'ampicilline systématiquement comme résistantes sans les tester. **Les céphalosporines sont dans la plupart des cas également résistantes** avec un maintien relatif de l'activité des céphamycines. La méthode de diffusion sur disque est fiable pour la clindamycine, à condition d'incuber 48 heures: la résistance est le plus souvent inductible, et, dans ce cas, la bactérie semble complètement sensible après 24 heures d'incubation.

La méthode de diffusion sur disque est fiable pour le métronidazole à condition que l'anaérobiose soit correcte. Même les concentrations faibles d'oxygène inhibent le bon fonctionnement des imidazoles.

Il est à noter que 11 des 12 laboratoires ayant fournis la réponse "sensible" pour l'amoxicilline-acide clavulanique ont utilisé les disques Neosensitab. La compagnie International Medical (le distributeur belge de Rosco) a été contactée; ils ont envoyé cette souche à Rosco, qui a mené son enquête, où le contrôle dans leur laboratoire a clairement démontré la résistance de la souche.

Dans ses recommandations la firme a donc insisté pour qu'on suive correctement la procédure:

The recommended procedure for susceptibility testing of anaerobes by the diffusion method is the following:

- * Use supplemented Brucella blood agar; it supports good growth for essentially all anaerobes. Brucella agar base is supplemented with 5 $\mu\text{g/ml}$ haemin, 5% defibrinated sheep blood and 1 $\mu\text{g/ml}$ vitamin K1 (haemin and vitamin K1 may be added before sterilisation).
- * Direct suspension of colonies in broth to achieve turbidity equivalent to a 1.0 McFarland standard (3×10^8 CFU/ml). Streak the surface of the agar with a cotton swab.
- * Allow the inoculated plate to remain at room temperature (5-10 min.) until the surface of the agar looks dry. For some fastidious isolates that do not grow on control plates, pre-reduction of plates in an anaerobic environment may be necessary. Apply Neo-Sensitabs tablets.
- * Invert the inoculated plate and incubate at 35°C in an anaerobic jar or alternative anaerobic environment, for 24-48 hours.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2007/1.

Tableau 1.2.1.: Résultats des antibiogrammes pour l'échantillon M/7021 (*Bacteroides fragilis*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R
Métronidazole	S	121	120	-	1
Clindamycine	R	134	1	-	133
Amoxicilline-acide clavulanique	R	138	12	31	95

1.2.2. Escherichia coli M/7253

La souche M/7253 est un *E.coli* ATCC35218. Le CLSI recommande l'usage de cette souche, en combinaison avec *E.coli* ATCC25922, pour le contrôle de qualité des antibiotiques contenant une combinaison de bêta-lactamines et d'inhibiteurs de bêta-lactamines. La souche *E. coli* ATCC 35218 contient un plasmide porteur d'une bêta-lactamase (non BLSE) qui est inactivée par un inhibiteur ; pour cette raison, elle est résistante à l'amoxicilline mais sensible à amoxicilline-acide clavulanique et aux autres associations bêta-lactamines/inhibiteur de bêta-lactamines.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2007/1. Le résultat attendu pour les différents antibiotiques est celui observé par les différents experts et est exprimé en « sensible », « intermédiaire » ou « résistant ». Ces résultats sont fournis à titre informatif. Parmi les antibiotiques testés seuls les diamètres et les CMI limites pour l'amoxicilline-acide clavulanique ont été déterminés par le CLSI pour *E.coli* ATCC35218.

Tableau 1.2.2. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7253 (*Escherichia coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ampicilline	R	175	-	-	175	-
Amoxicilline ¹	R	6	-	-	6	-
Amoxicilline-acide clavulanique	S	182	173	6	3	-
Amikacine	S	177	176	-	-	1 ³
Gentamicine	S	168	167	-	-	1 ³
Nitrofurantoïne	S	180	178	2	-	-
Co-trimoxazole	S	181	179	2	-	-
Quinolones						
Ciprofloxacine	S	103	103	-	-	-
Lévofloxacine	S	17	17	-	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-	-
Norfloxacine	S	60	60	-	-	-
Ofloxacine	S	16	16	-	-	-
Acide nalidixique	S	1	1	-	-	-
«Quinolone» ²	S	11	11	-	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.

² Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

³ Un laboratoire a fourni le résultat brut pour l'amikacine et la gentamicine, mais pas le résultat final.

Tous les laboratoires ont observé une résistance à l'ampicilline ce qui signifie qu'à chaque fois la souche testée contenait le plasmide porteur de la bêta-lactamase. La plupart des laboratoires a obtenu un diamètre ou une CMI dans les limites attendues pour l'amoxicilline-acide clavulanique. Douze laboratoires sur 182 (6 %) ont obtenu un diamètre ou une CMI en dehors des limites. Huit laboratoires ont observé un diamètre trop grand ou une CMI trop petite : 5 utilisateurs de disques NEOSENSITABS (charge 30 + 15) (diamètre de 27,27, 27, 33 et 43 mm pour un diamètre attendu de 21 à 26 mm), un utilisateur de disques papier Becton Dickinson (25 mm pour un diamètre attendu de 17 à 22 mm), un utilisateur de VITEK et un utilisateur de VITEK compact (CMI ≤ 2 $\mu\text{g/ml}$ pour une CMI attendue de 4/2 à 16/8 $\mu\text{gr/ml}$). Les 4 autres laboratoires ont mentionné un diamètre trop petit : 3 utilisateurs de disques papiers (Oxoid, bioMérieux et Becton Dickinson) (9, 16 et 15 mm respectivement pour un diamètre attendu de 17 à 22 mm) et un utilisateur de disques NEOSENSITABS (diamètre de 12 mm). **Les raisons de ces résultats hors limites peuvent être multiples. L'attitude à tenir dépendra de l'origine du problème et est décrite dans les documents édités par le CLSI ou par la firme ROSCO.** Un diamètre trop grand ou une CMI trop faible peuvent être dus à une perte du plasmide porteur de la bêta-lactamase qui se manifestera par une sensibilité à l'ampicilline ou à l'amoxicilline. Un diamètre trop petit ou une CMI trop élevée peuvent provenir de l'instabilité de l'acide clavulanique ou de la dégradation de l'amoxicilline. Dans ce cas le CLSI recommande l'usage d'un autre lot, la vérification des conditions de stockage et de la qualité du conditionnement de l'antibiotique.

1.2.3. *Pseudomonas aeruginosa*, métallo- β -lactamase (VIM-1) M/7295 et *Pseudomonas aeruginosa*, métallo- β -lactamase (SPM-1) M/7298

Ces deux souches ont principalement été envoyées pour les particularités dans les antibiogrammes.

La souche M/7295 contenait un **métallo- β -lactamase** (du type VIM-1) et était résistante à la ticarcilline, à la pipéracilline-tazobactam, à la ceftazidime, à la céfépime et au méropénème; la souche avait une sensibilité intermédiaire à l'aztréonam et sensible à la colistine.

La plupart des laboratoires n'ont eu aucun problème pour retrouver la résistance aux différents antibiotiques. Comme on pouvait l'attendre, **les résultats des tests de sensibilité pour l'aztréonam ont montré une très grande variation:** les résultats « R », « I » et « S » ont été rapportés et ce indépendamment de la technique utilisée.

Il est à noter que 3 laboratoires ont rapporté la souche comme résistante à la colistine.

La souche M/7298 contenait également un **métallo- β -lactamase** (du type SPM-1), était résistante à la ticarcilline, à la pipéracilline-tazobactam, à la ceftazidime, à la céfépime, à l'aztréonam et au méropénème et sensible à la colistine.

La plupart des laboratoires n'ont eu aucun problème pour retrouver la résistance à la ticarcilline, aux céphalosporines et au méropénème. Les tests de sensibilité pour la pipéracilline-tazobactam et l'aztréonam étaient plus difficiles: même si **la majorité des laboratoires a considéré la souche comme résistante à la pipéracilline-tazobactam, 12.6% ont néanmoins rapporté la souche comme intermédiaire et 5.4% comme sensible.** Pour l'aztréonam **42.8% des laboratoires ont fourni la réponse « I » et 54.8% la réponse « R »;** seuls 3 laboratoires (2.4%) ont considéré que la souche était sensible. Comme c'était le cas pour la souche M/7295 ces résultats étaient **indépendants de la technique utilisée.**

Il est à noter que 2 laboratoires ont rapporté la souche comme résistante à la colistine.

Les métallo- β -lactamases ont été amplement décrits dans le commentaire, publié dans le rapport global 2007/2 (génétique, profils de résistances, mécanismes de détection, prévalence).

Les deux souches envoyées présentaient un profil de multi-résistance affectant l'ensemble des β -lactamines ainsi que les aminoglycosides et les fluoroquinolones (non testées dans cette évaluation) tout à fait typique d'un mécanisme de résistance acquise de type MBL.

Le commentaire a également traité le fait que la souche M/7298 présentait une résistance « limite » vis-à-vis de l'association piperacilline-tazobactam (CMI 128/4 $\mu\text{g/ml}$). **Cette souche a été rapportée en résultat brut comme sensible à cet antibiotique (CMI=**

64 µg/ml) par environ un tiers des participants utilisateurs de la méthode d'antibiogramme VITEK2 ou VITEK2 compact tandis que les laboratoires utilisant les méthodes de diffusion (disque papier ou tablettes ROSCO®) ont très majoritairement catégorisé la souche comme résistante. Dans ce contexte il est important de savoir que le CLSI ne propose qu'un seuil de catégorisation pour distinguer les souches sensibles (CMI ≤ 64/4 µg/ml) des souches résistantes (CMI ≥ 128/4 µg/ml) et qu'il n'existe pas de catégorie intermédiaire. Il est également important de noter que le niveau de **sensibilité des souches sauvage de *P. aeruginosa* aux antibiotiques** (notamment aux beta-lactamines) **est souvent proche des seuils limites fixés** et que des variations méthodologiques (taille de l'inoculum, durée d'incubation, culture en milieu solide Vs. milieu liquide) peuvent influencer le résultat final. Plusieurs études comparatives récentes ont montré que les systèmes automatisés généraient une proportion relativement élevée de résultats faussement sensibles chez *P. aeruginosa*. Il semble actuellement bien établi qu'il existe un risque important d'erreurs de résultats d'antibiogramme de *P. aeruginosa* vis-à-vis des beta-lactamines dans leur ensemble et que **les algorithmes interprétatifs des automates vis-à-vis de ces antibiotiques doivent faire l'objet d'une révision.**

En conséquence, il est fortement recommandé de considérer avec la plus grande prudence les résultats d'antibiogramme des systèmes automatisés pour les beta-lactamines chez *P. aeruginosa* et de **les confirmer par une autre méthode** (diffusion des disques en gélose, CMI par E test).

Contact pris avec bioMérieux, la compagnie étudie activement cette question afin d'améliorer les performances des systèmes VITEK.

En ce qui concerne la **colistine** (polymyxine E) il est à noter qu'en cas d'utilisation thérapeutique (traitement d'infections sévères par souches multi-résistantes) il est impératif **de vérifier la sensibilité par détermination de la CMI** (par microdilution ou par E-test). Les concentrations et diamètres critiques varient selon les pays:

Etats-Unis (CLSI) : Sensible CMI ≤ 2 µg/ml et résistant CMI ≥ 8 µg/ml

France (CA-SFM) : Sensible CMI ≤ 2 µg/ml et résistant CMI > 2 µg/ml

Les tableaux ci-dessous ont été publiés dans le rapport global 2007/2.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7295 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ticarcilline	R	71	-	-	71	-
Pipéracilline-tazobactam	R	166	1	3	162	-
Ceftazidime	R	179	-	-	179	-
Céfépime	R	161	-	-	161	-
Aztréonam	I	126	14	72	39	1 ³
Méropénème	R	162	-	-	162	-
Imipénème ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	123	2	3	1 ⁴
Polymyxine ²	S	9	9	-	-	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'imipénème au lieu du méropénème.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la polymyxine au lieu de la colistine.

³ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour l'aztréonam, mais pas le résultat final.

⁴ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

Tableau 1.2.4. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/7298 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R	*
Ticarcilline	R	70	-	-	70	-
Pipéracilline-tazobactam	R	166	9	21	135	1 ³
Ceftazidime	R	179	1	-	178	-
Céfépime	R	161	1	-	158	2 ⁴
Aztréonam	R	126	3	54	69	-
Méropénème	R	162	-	-	161	1 ⁵
Imipénème ¹	R	10	-	-	10	-
Colistine	S	129	125	1	2	1 ⁶
Polymyxine ²	S	8	7	-	1	-

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'imipénème au lieu du méropénème.

² Un certain nombre de laboratoires ont testé la polymyxine au lieu de la colistine.

³ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « I ») pour la pipéracilline-tazobactam, mais pas le résultat final.

⁴ Deux laboratoires ont fourni le diamètre mais pas d'interprétation qualitative pour la céfépime.

⁵ Un laboratoire a fourni le diamètre mais pas d'interprétation qualitative pour le méropénème.

⁶ Un laboratoire a fourni le diamètre, le résultat brut et le résultat expert (2 fois « S ») pour la colistine, mais pas le résultat final.

1.2.4. *Staphylococcus aureus* M/7758

Cette souche était un **MSSA, résistant aux quinolones.**

La totalité des laboratoires a correctement répondu la résistance à la pénicilline et la sensibilité à l'oxacilline. 179/180 labos ont correctement répondu la résistance aux macrolides. 74% des labos ont correctement répondu la résistance (I+R) à la clindamycine et 26% ont faussement répondu la souche comme sensible à la clindamycine. La totalité des labos a correctement répondu la résistance aux quinolones. Le commentaire a insisté sur le fait que la souche M/7758 était une souche de *S. aureus* présentant un profil de résistance aux antibiotiques habituellement retrouvé au sein des souches de MRSA. L'intérêt de cette souche était donc **d'attirer l'attention des laboratoires sur le caractère potentiellement multirésistant d'une souche de MSSA** plutôt que d'évaluer la capacité à déterminer la sensibilité à l'oxacilline d'un *S. aureus*.

La détection de la sensibilité à l'oxacilline n'a posé aucun problème. Conformément aux recommandations du CLSI, l'utilisation de la céfoxitine dont on connaît la plus grande sensibilité à déterminer la résistance aux pénicillines résistantes aux pénicillinases est largement répandue.

Le commentaire a également rappelé que les milieux destinés à la mise en évidence des MRSA dans les frottis de dépistage ne constituent pas une méthode de détermination de la résistance à l'oxacilline chez *S. aureus* et ne peuvent être utilisés à cette fin.

En ce qui concerne les **MLS**, on a constaté que 46/179 (**25%**) labos ayant correctement détecté la résistance aux macrolides n'ont pas corrigé la sensibilité à la clindamycine. Ceci illustre bien le **manque de recommandations claires à ce sujet**. Comme nous le précise le Dr Olivier Denis du centre de référence belge des MRSA, les avis des différentes sociétés d'antibiogramme (CLSI, CA-SFM) ne sont pas aussi catégoriques quant à répondre R à la clindamycine pour les souches présentant un phénotype MLSb inductible. Les **américains** proposent de **rapporter R pour la clindamycine en rajoutant un commentaire** indiquant que dans certaines situations cliniques la clindamycine peut être utilisée. Les **français ne recommandent pas de corriger** systématiquement. Le **microbiologiste doit** donc certainement **avertir le clinicien d'un risque d'échec thérapeutique** dans certaines situations cliniques avec des inoculum élevés, dans des sites cliniques particuliers (médiastinites, infections respiratoires, ...).

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2007/3.

Tableau 1.2.5.: Résultats de l'antibiogramme de M/7758 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	R
Pénicilline	R	176	-	-	176
Oxacilline	S	154	154	-	-
Méthicilline	S	10	10	-	-
Céfoxitine	S	128	128	-	-
Erythromycine	R	178	1	-	177
Clarithromycine ¹	R	2	-	-	2
Clindamycine	R	180	46	13	121
Quinolones					
Ciprofloxacine	R	99	-	-	99
Lévofloxacine	R	43	-	-	43
Moxifloxacine	R	17	-	-	17
Norfloxacine	R	15	-	1	14
Ofloxacine	R	17	-	-	17
Acide oxolinique	R	1	-	-	1
"Quinolone" ²	R	13	-	-	13

¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé la clarithromycine au lieu de l'érythromycine.

² Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.5. *Klebsiella pneumoniae* M/7759

La souche envoyée était une *Klebsiella pneumoniae* avec une ampC plasmidique (DHA1) et une β -lactamase de type SHV 11. La présence de ces 2 β -lactamases a été confirmée avec des techniques moléculaires.

Le commentaire sur l'échantillon a décrit **un test simple pour détecter les ampC** : une colonie de la souche à examiner est appliquée sur un disque blanc imprégné de tris-EDTA et ce disque est placé à côté d'un disque de céfoxitine sur un milieu Müeller-Hinton ensemencé avec un *E. coli* sensible à la céfoxitine. L'EDTA rend la paroi de la souche examinée perméable ce qui fait diffuser la β -lactamase ampC de cette souche dans le milieu et permet à l'*E. coli* de pousser en présence de la céfoxitine. On voit à ce moment un aplatissement ou profil bosselé de la zone de sensibilité de la céfoxitine de l'*E. coli* sous-jacent chez une souche ampC positive.

Le commentaire a également illustré que **les tests de détermination de la sensibilité deviennent de plus en plus difficiles à interpréter** vu qu'il y a de plus en plus de mécanismes de résistance décrits. Tous les mécanismes ne peuvent pas toujours être recherchés en routine vu que la détection de ces mécanismes nécessite l'utilisation de molécules non utilisées en clinique. Pour **les Entérobactéries productrices de BLSE** (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Proteus*) il existe assez d'évidence pour démontrer qu'il **vaut mieux ne pas utiliser les céphalosporines de 3^e et 4^e génération** malgré une éventuelle sensibilité in vitro. Pour les *K. pneumoniae* productrices d'ampC les données sont plus rares **et les directives sont moins claires** ou inexistantes. Si on suit les directives du CLSI (86% des participants) la souche M7759 doit être examinée plus amplement pour la présence d'une BLSE (ceftazidime $\varnothing \leq 22\text{mm}$ et/ou CMI ≥ 2). Les tests de confirmation (E-test, TSDD) seront cependant négatifs et on ne suggère donc pas de modification de catégorie. Néanmoins **on conseille de plus en plus de traiter les infections sévères de ces germes de la même façon que les *K. pneumoniae* productrices de BLSE**. La définition du terme "BLSE" est d'ailleurs constamment en évolution et entre autres Livermore suggère de considérer les enzymes ampC plasmidiques comme des BLSE. Dans une épidémie décrite récemment, d'où est originaire cette souche, des CMI moyennes plus élevées (allant jusqu'à des résistances complètes) ont été mesurées pour la plupart des céphalosporines.

Il doit donc être clair que ces souches ne peuvent pas être répondues comme sensibles aux céphalosporines de 3^e (et 4^e) génération sans commentaire et que le laboratoire ferait mieux d'avertir le clinicien d'un échec thérapeutique possible avec ces antibiotiques.

Il est possible que dans le futur, la détermination systématique de la CMI et l'adoption de breakpoints plus bas donneront des critères de réponse à la fois meilleurs et plus simples aux laboratoires. La transition vers les breakpoints EUCAST peut donc être une étape importante.

L'envoi de cette souche était accompagné de beaucoup de problèmes au niveau de la détermination de la sensibilité. Non seulement il ne s'agissait pas d'un profil de résistance classique pour une *K. pneumoniae* mais en outre il s'est avéré que chez un certain nombre d'utilisateurs la souche avait perdu son plasmide, probablement du à la lyophilisation. Néanmoins une analyse approfondie des résultats (CMI ou diamètres transmis) montre qu'uniquement dans 13 des 127 (10%) réponses évaluables, il peut être question d'une *K. pneumoniae* complètement sensible.

Quand les résultats de la ceftazidime sont contrôlés comme antibiotique "type" pour les céphalosporines de la 3^e génération, il s'avère que 110/177 laboratoires ont rapporté la souche comme sensible. Pour les laboratoires qui ont transmis les données brutes, il s'avère que 85 des 127 laboratoires ont trouvé la souche sensible et 22 laboratoires ont modifié ce résultat en intermédiaire ou résistant.

Environ 60% des laboratoires transmettraient la souche donc comme sensible aux céphalosporines de 3^e (et 4^e) génération sans aucun commentaire.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2007/3. Pour raison de simplification nous n'avons repris dans ce tableau que le résultat le plus résistant des laboratoires ayant répondu les résultats de 2 phénotypes.

Tableau 1.2.6.: Résultats de l'antibiogramme de M/7759 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Nombre total de labos	S	I	I/R	R	*
Ampicilline	R	175	-	-	-	175	-
Amoxicilline ¹	R	3	-	-	-	3	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	182	23	31	-	127	1 ²
Pipéracilline-tazobactam		158	88	42	1	25	2 ^{3,4}
Ceftazidime		177	110	25	-	39	3 ^{3,4,5}
Céfotaxime		148	108	15	-	24	1 ³
Céfépime	S	159	140	-	-	17	2 ^{3,4}
Ceftriaxone ⁶		8	5	1	-	2	-
Quinolones							
Ciprofloxacine	R	114	-	-	-	114	-
Lévofloxacine	R	13	-	-	-	13	-
Moxifloxacine	R	1	-	-	-	1	-
Norfloxacine	R	48	-	-	-	48	-
Ofloxacine	R	11	-	-	-	11	-
Acide oxolinique	R	1	-	-	-	1	-
"Quinolone" ⁷	R	16	-	-	-	16	-

- ¹ Un certain nombre de laboratoires ont testé l'amoxicilline au lieu de l'ampicilline.
- ² Un laboratoire a mentionné le résultat brut et expert (I) pour l'amoxicilline-acide clavulanique mais a laissé ouvert le résultat final.
- ³ Un laboratoire a mentionné le résultat brut et expert (S dans tous les cas) pour la pipéracilline-tazobactam, la ceftazidime, la céfotaxime et la céfépime mais a laissé ouvert le résultat final. Ce laboratoire a mentionné dans une remarque: « Suspicion d'une résistance AMP pour les raisons suivantes: 1) Céfoxitine résistant sur Vitek 2 compact 2) repousse dans la zone de ceftazidime 3) induction de la céfotaxime avec l'amoxicilline-acide clavulanique; pour ces raisons les β -lactamines mesurées sensibles ne sont pas rapportées; suggestion: tester la méropénème »
- ⁴ Un laboratoire a mentionné le résultat brut (S) pour la pipéracilline-tazobactam, la ceftazidime et la céfépime mais a laissé ouvert le résultat final.
- ⁵ Un laboratoire a mentionné le résultat brut et expert (S) pour la ceftazidime mais a laissé ouvert le résultat final.
- ⁶ Six laboratoires ont testé la ceftriaxone au lieu de la céfotaxime; un laboratoire a testé la ceftriaxone au lieu de la céfépime; et un laboratoire a testé la céfotaxime avec les tests de diffusion la ceftriaxone avec le Phoenix.
- ⁷ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

II. PARASITOLOGIE

Trois enquêtes ont été organisées dans le domaine de la parasitologie.

2.1. Enquête 1

180 laboratoires ont participé à cette enquête.

Deux suspensions de selles formolées, P/7254 et P/7255, ont été envoyées.

L'échantillon P/7254 contenait des kystes de *Giardia lamblia* et d'*Entamoeba histolytica*. Dans un certain nombre d'échantillons, on pouvait retrouver également des kystes de *Blastocystis hominis*; étant donné que la quantité de ce parasite était limitée, il se pouvait que ce parasite ne soit pas visible dans certains échantillons.

Giardia lamblia (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 178 (98.9%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 173 participants.

Entamoeba histolytica, *Entamoeba histolytica/dispar* ou *Entamoeba dispar* (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 106 (58.9%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 104 participants, 11 (6.1%) laboratoires ont répondu *Entamoeba species*. D'autres espèces d'*Entamoeba* que d'*E. histolytica* ou d'*E. dispar* ont été rapporté par 26 (14.4%) laboratoires.

Blastocystis hominis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 55 (30.6%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 44 participants.

L'échantillon P/7255 ne contenait pas de parasites.

164 (92.1%) laboratoires ont répondu « Absence de parasites » tandis que 14 (7.9%) laboratoires ont rapporté la présence d'un ou plusieurs parasites.

Les mêmes échantillons avaient déjà été envoyés à l'occasion de l'enquête 2006/1 (sous les numéros P/6231 et P/6695). Le tableau suivant présente la comparaison des résultats corrects de ces 2 enquêtes.

Tableau 2.1. Comparaison des résultats corrects des enquêtes 2006/1 et 2007/1: les % représentent le pourcentage de laboratoires ayant retrouvé le parasite concerné; quoique *B. hominis* ne pouvait pas être retrouvé dans tous les échantillons, nous présentons, à titre d'information, le % dans ce tableau.

N labos: 189 (P/6231), 189 (P/6695), 180 (P/7254), 178 (P/7255)

	P/6231 (2006/1)	P/7254 (2007/1)
<i>Giardia lamblia</i>	97.9%	98.9%
<i>Entamoeba histolytica</i>	28.6%	37.8%
<i>Entamoeba histolytica /dispar</i>	12.2%	18.9%
<i>Entamoeba dispar</i>	2.1%	2.2%
<i>Entamoeba species</i>	6.3%	6.1%
<i>Blastocystis hominis</i>	26.4%	30.6%
	P/6695 (2006/1)	P/7255 (2007/1)
Absence de parasites	86.8%	92.1%

En ce qui concerne l'échantillon qui ne contient pas de parasites, il y a 4 laboratoires qui ont supposé voir des parasites aussi bien en 2006 qu'en 2007 (pour 2 d'entre eux, il s'agissait les 2 années du même parasite).

2.2. Enquête 2

180 laboratoires ont participé à cette enquête.

Deux suspensions de selles formolées, P/7368 et P/7376, ont été envoyées.

L'échantillon P/7368 contenait des kystes d'*Entamoeba coli*

Entamoeba coli (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 176 (97.8%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par 173 participants.

L'échantillon P/7376 contenait des oeufs de *Hymenolepis nana*

Hymenolepis nana (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 169 (93.9%) laboratoires. Les oeufs ont été retrouvés par 153 participants.

Le commentaire de l'enquête a discuté de plus près les différentes amibes, qui sont habituellement classées en espèces pathogènes (*Entamoeba histolytica* et peut être *Entamoeba polecki*) et non pathogènes (*E. coli*, *E. hartmanni*, *E. gingivalis*, *Endolimax nana*, *Iodamoeba butschlii* et *Entamoeba dispar*).

On a noté une fois de plus que l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica* ne peut pas être différenciée morphologiquement de l'espèce non pathogène *Entamoeba dispar*. Les seules manières de les distinguer sont des techniques soit immunologiques soit moléculaires.

Les différences microscopiques essentielles entre *E. coli* et *E. histolytica/dispar* ont été également reprises.

On a également répété que pour tout examen parasitaire, la récolte de trois échantillons de selles durant trois jours consécutifs est recommandée car l'émission des œufs est discontinue. Sur chacun de ces échantillons un examen à frais avec et sans coloration à l'Iode ou avec un autre colorant commercial est réalisé. Comme les parasites peuvent être rares, l'examen à frais d'un petit volume de selles est fréquemment négatif, c'est pourquoi on utilisera aussi des techniques de concentration (sédimentation ou flottaison), qui permettent de concentrer les kystes, mais qui détruisent les formes végétatives.

2.3. Enquête 3

Deux frottis de sang, P/7870 et P/7875 ont été envoyés.

183 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/7870 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium ovale*.

Dans un certain nombre d'échantillons, on pouvait également retrouver des schizontes.

Les identifications des parasites ont été confirmées par PCR.

Plasmodium ovale (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 35 (19.1%) laboratoires. Tous ces 35 laboratoires ont mentionné la présence des trophozoïtes.

38 (20.8%) laboratoires ont répondu *Plasmodium species* et 11 (6.0%) ont répondu *Plasmodium non-falciparum*. En outre 43 (23.5%) des laboratoires ont mentionné un *P. non-falciparum* autre qu'ovale.

Un grand nombre de laboratoires ont mentionné qu'en routine ils enverraient cet échantillon au centre de référence pour une identification définitive.

L'échantillon P/7875 contenait des trophozoïtes de *Plasmodium malariae*.

Dans un certain nombre d'échantillons, on pouvait également retrouver des schizontes.

Les identifications des parasites ont été confirmées par PCR.

Plasmodium malariae (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 81 (44.3%) laboratoires. 79 laboratoires ont mentionné la présence des trophozoïtes.

37 (20.2%) laboratoires ont répondu *Plasmodium species* et 17 (9.3%) ont répondu *Plasmodium non-falciparum*. En outre 22 (12.0%) des laboratoires ont mentionné un *P. non-falciparum* autre que *malariae*.

Un grand nombre de laboratoires ont mentionné qu'en routine ils enverraient cet échantillon au centre de référence pour une identification définitive.

Le commentaire a accentué l'intérêt de la distinction entre *P. falciparum* et *P. non-falciparum*. *P.falciparum* se distingue en termes de complications et de mortalité des autres espèces et demande un traitement spécifique avec, si nécessaire, une admission à l'hôpital. La stratégie mentionnée par beaucoup de laboratoires "identification au niveau de *P.falciparum/non-falciparum* et envoi au centre de référence pour identification de l'espèce et confirmation " est dans le pratique diagnostique une option correcte et réalisable que nous encourageons.

Le commentaire a également fourni quelques clefs pour l'identification correcte de l'espèce.

En plus il a proposé une méthode pour la détermination de la parasitémie, exprimée en % de globules rouges infectés d'un frottis.

2.4. Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 36%, 47% et 56% pour chacune des enquêtes.

Nous conseillons d'utiliser le plus possible cette manière de répondre. Outre un traitement plus rapide, le toolkit offre l'avantage d'éviter certaines erreurs comme les fautes de frappe, l'utilisation d'anciens codes, les erreurs d'encodage,...

III SEROLOGIE INFECTIEUSE

En 2007, les paramètres sérologiques pour la borréliose, la rubéole, l'hépatite A, l'hépatite B, la syphilis, la brucellose et le VIH ont été évalués. Le nombre de participants a varié selon le paramètre évalué.

3.1. La borréliose

L'échantillon S/7075 a été envoyé pour détermination des anticorps anti-Borrelia d'un point de vue didactique. L'échantillon était négatif pour les anticorps anti-Borrelia (démonstré par des membres du comité d'experts à l'aide des techniques de blot), mais contenait des anticorps anti-anaplasmoze. Le but de cet EEQ était de déterminer s'il existe des réactions croisées avec ces anticorps anti-anaplasmoze dans l'utilisation de certaines trousse. Le but était également de familiariser les laboratoires avec l'existence de ces réactions croisées.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante : « Patient ayant présenté de la fièvre (39°C), une céphalée et des myalgies 5 jours après l'extraction d'une tique par le médecin traitant au mois de juillet 2005».

140 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 215 tests.

75 (53.6%) laboratoires ont effectué 1 test, 57 (40.7%) laboratoires ont effectué 2 tests, 6 (4.3%) laboratoires ont effectué 3 tests, 2 (1.4%) laboratoires ont effectué 4 tests.

Les laboratoires qui n'utilisent qu'1 test, ont tous recherché les anticorps totaux; les laboratoires utilisant plus d'1 test recherchent tous les IgG et IgM, éventuellement accompagné de la recherche des anticorps totaux. 89% des laboratoires recherchant les anticorps totaux, déterminent les anticorps généraux, 9% les anticorps anti-C6. Pour la détermination des IgG et IgM ils ont utilisé en 95.5% des cas des tests non-blot et en 4.5% des cas des tests blot.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux: VIDAS Lyme (bioMérieux) ((85.2%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (46.3%), Borrelia burgdorferi IgG Elisa (Euroimmun) (19.4%) et Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (13.4%)
- IgM : Liaison Borrelia IgM (Diasorin) (46.3%), Borrelia burgdorferi IgM Elisa (Euroimmun) (19.4%) et Enzygnost Borreliosis (Dade Behring) (16.4%)

Tous les laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux (aussi bien les généraux que les anti-C6), ont obtenu un résultat négatif.

Pour les IgG 96.8% des participants (ayant effectué ce test) ont obtenu un résultat négatif avec les tests non-blot; pour les tests blot 2 des 3 résultats étaient négatifs.

Pour les IgM tous les des participants (ayant effectué ce test) ont obtenu un résultat négatif aussi bien avec les tests non-blot qu'avec les tests blot.

Etant donné que la plus grande majorité des laboratoires ont obtenu des résultats négatifs, ils ont fourni l'interprétation « Absence d'anticorps » (97.9% des laboratoires). Seuls les laboratoires ayant obtenu un résultat positif ou borderline avec les tests IgG non-blot, ont suggéré la présence possible d'anticorps (1.4% des laboratoires) tandis que 0.7% des laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation. Le laboratoire ayant obtenu un résultat borderline avec le test blot des IgG (bande p30), a conclu à " Absence d'anticorps ".

79.5% des laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps » n'ont soit pas donné de remarque, soit n'ont mentionné qu'une confirmation par Western Blot n'était pas nécessaire. 12.4% des laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps », ont conseillé d'effectuer un échantillon de suivi; il est à noter qu'il n'existe pas d'unanimité au sujet de l'intervalle pour ce prélèvement de suivi: les propositions varient de 10 jours jusque 6 à 8 semaines. Deux de ces laboratoires ont mentionné la possibilité d'une anaplasmose.

2.1 % des laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps », ont néanmoins conseillé d'effectuer une confirmation par Western Blot ou ont effectué eux-mêmes cette confirmation.

Le commentaire sur les résultats de l'enquête a accentué le fait que la performance des techniques mises en œuvre par l'ensemble des laboratoires en termes de spécificité est excellente.

Le commentaire a également décrit la cliniques, les tests de laboratoire, l'épidémiologie et le traitement de l'anaplasmose. IL convient de répéter qu'à ce jour, seul le laboratoire de référence de l'hôpital militaire exécute les techniques de sérologie et de PCR pour l'ensemble du pays :

Christel Cochez, Paul Heyman et Christian Vandenvelde

Research Laboratory for Vector-borne Diseases, Hôpital Militaire Reine Astrid, Bruynstr.1, B-1120 Brussels Tél: 02 264 40 44 Fax: 02 264 46 08 E-mail: paul.heyman@mil.be

3.2. La rubéole

1 échantillon lyophilisé, S/6387, a été envoyé pour effectuer la détermination des anticorps anti-Rubella.

Cet échantillon a été considéré négatif par certains experts et borderline à positif par d'autres. L'échantillon a été envoyé pour évaluer les résultats de cet échantillon avec les troussees disponibles sur le marché belge.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante : « Une jeune femme se présente chez son généraliste pour un examen avant grossesse. Elle ne se rappelle plus si elle a été vaccinée contre la rubéole. Le médecin prend un échantillon pour contrôler les anticorps. »

171 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 333 tests. 12 (7.0%) laboratoires ont effectué 1 test (tous ont déterminé les IgG), 157 (91.8%) laboratoires ont effectué 2 tests, un (0.6%) laboratoire a effectué 3 tests et un (0.6%) laboratoire a effectué 4 tests.

Les laboratoires ayant effectués plus d'un test, ont dans presque tous les cas déterminé les IgG et IgM; seuls 2 laboratoires ont également recherché les anticorps totaux.

Les troussees les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux: trousse d'hémagglutination inhibition de (Dade Behring) (100%)
- IgG: AxSYM Rubella IgG (Abbott) (36.3%), VIDAS Rub IgG II (bioMérieux) (18.1%), Access Rubella IgG (Beckman) (14.0%), Liaison Rubella IgG (Diasorin) (14.0%) et ADVIA Centaur Rubella IgG (Siemens) (8.8%)
- IgM : AxSYM Rubella IgM (Abbott) (34.4%), VIDAS Rub IgM II (bioMérieux) (18.8%), Liaison Rubella IgM (Diasorin) (15.0%), Access Rubella IgM (Beckman) (13.1%) et ADVIA Centaur Rubella IgM (Siemens) (8.8%)

Les 2 laboratoires ayant déterminé les anticorps totaux, les ont trouvé négatifs.

Les résultats des IgG dépendaient des trousseuses utilisées: 88 (51.8%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 44 (25.9%) un résultat positif et 38 (22.3%) un borderline.

Les résultats positifs ont été obtenus avec les trousseuses AxSYM Rubella IgG (36) et ADVIA Centaur Rubella IgG (8).

Les résultats borderline ont été obtenus avec les trousseuses AxSYM Rubella IgG (25), ADVIA Centaur Rubella IgG (7), VIDIA Rub IgG (3), Access Rubella IgG (1), LXi Rubella IgG (1) et Immulite Rubella IgG (1).

En d'autres mots, il s'est avéré que 61/62 des utilisateurs de la trousseuse AxSYM Rubella IgG, et tous les utilisateurs des trousseuses ADVIA Centaur Rubella et VIDIA Rub IgG ont obtenu un résultat « non négatif ». L'examen des firmes Abbott, bioMérieux et Siemens a confirmé que l'échantillon peut fournir différents résultats en fonction de la technique utilisée. *La problématique des échantillons avec un résultat borderline a été développée dans le commentaire* (dont vous trouverez un résumé dans la dernière partie du chapitre actuel).

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM.

Les interprétations ont évidemment été influencées par les résultats des tests effectués. Tous les laboratoires ayant obtenu un résultat négatif pour les IgG et un certain nombre des laboratoires ayant obtenu un résultat borderline, ont fourni l'interprétation « pas d'immunité », accompagnée ou non d'une remarque additionnel (61.4% des laboratoires). Presque tous les laboratoires ayant obtenu un résultat positif pour les IgG et un certain nombre ayant fourni des résultats borderline, ont fourni une interprétation qui réfère à « immunité » (31% des laboratoires) (les laboratoires ayant trouvé des résultats borderline ont ajouté des termes comme « faible », « basse », « valeur limite » ou « douteuse »). La plupart des autres laboratoires ayant obtenu un résultat borderline ont proposé leur propre interprétation (6.4%), 1.2% des laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation.

La problématique des échantillons avec des résultats borderline a été développée dans le commentaire. ***Il est bien connu que, quand différentes trouses sont utilisées pour tester des échantillons borderline positifs, les résultats peuvent varier de négatif à positif selon la trousse utilisée.*** La raison en est le cut-off choisi par les producteurs. Certains préfèrent un cut-off plus bas pour leur trousse et la considèrent comme plus "sensible" pour la détection des anticorps ; d'autres choisissent un cut-off plus élevé où ce type d'échantillon est alors considéré plutôt comme négatif. ***Les deux options ont leurs avantages et leurs désavantages.***

Même si de tels problèmes ne se produisent pas souvent en routine, ils sont suffisamment importants pour attirer l'attention. Cette situation peut induire des mauvaises interprétations lorsque les analyses pour une même patiente sont réalisées dans différents laboratoires. ***En cas de désaccord entre les résultats de différents laboratoires, il est donc nécessaire d'examiner les techniques utilisées pour tester les échantillons.*** Une bonne connaissance des caractéristiques de la trousse peut dans la plupart des cas éviter des tests supplémentaires et une inquiétude chez les patientes. La problématique de l'interprétation de tels échantillons a également été développée dans le commentaire. ***Les patientes dont le résultat sérologique des anticorps IgG se trouve dans la zone grise, doivent être considérées comme non immunisées pour la rubéole.*** On peut conseiller de vacciner ces patientes. On considère qu'une administration unique du vaccin est suffisante et qu'un contrôle de la sérologie après vaccination n'est pas vraiment nécessaire.

3.3. L'hépatite A

Un échantillon lyophilisé S/7225 a été envoyé.

Les tests d'hépatite A et B devaient être effectués sur les deux échantillons

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante: « Une femme se présente au Centre de vaccination. On décide de contrôler son statut immunitaire pour les hépatites A et B. »

Les résultats et interprétations attendues étaient pour l'hépatite A:

IgG positifs, IgM négatifs

Immunité

175 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 326 tests. 24 laboratoires ont effectué un test : 20 ont déterminé les IgM et 4 les anticorps totaux.

151 laboratoires ont effectué 2 tests : 129 laboratoires ont déterminé les anticorps totaux et les IgM ; 22 les IgG et IgM.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: Architect HAV IgG (Abbott) (100%) (il n'existe qu'une trousse pour détermination des IgG anti-HAV sur le marché belge)
- Ac. totaux: AxSym HAVAB 2.0 (Abbott) (30.1%), VIDAS anti-HAV Total (bioMérieux) (20.3%), Advia Centaur HAV Total (Siemens) (9.8%), Liaison anti-HAV (DiaSorin) (9.0%) et Modular anti-HAV (Roche) (7.5%),
- IgM: AxSym HAVAB M 2.0 (Abbott) (28.7%), VIDAS HAV IgM (bioMérieux) (15.2%), Architect HAV IgM (Abbott) (13.5%), Advia Centaur HAV IgM (Bayer) (8.2%) et Liaison HAV IgM (DiaSorin) (7.0%)

Tous les laboratoires ayant déterminé les IgG les ont trouvés positifs.

Les anticorps totaux ont été considérés comme positifs par 131 (98.5%) laboratoires. Un laboratoire a obtenu un résultat négatif et un laboratoire n'a pas fourni d'interprétation qualitative.

169 (98.8%) laboratoires ayant déterminé les IgM, les ont trouvés négatifs. Deux laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation qualitative.

87.4% des laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Immunité ». 5.7% ont donné comme interprétation « Pas d'infection aiguë par le virus de l'hépatite A » et 2.9% « L'interprétation du statut immunitaire ne peut pas être effectuée sur seule base des IgM, des tests complémentaires (anti-HAV IgG) sont nécessaires ». Ces 2 interprétations ont été fournies par des laboratoires qui ne déterminent que les IgM. 2.3% ont répondu « Pas d'immunité » ; parmi ces laboratoires il y avait des laboratoires qui ne déterminent que les IgM, mais également le laboratoire ayant obtenu le résultat (faux) négatif pour les IgG et

même un laboratoire qui avait considéré les IgG comme positifs. 1.7% des laboratoires n'ont pas donné d'interprétation.

Dans le commentaire sur l'enquête la rédactrice a accentué *qu'il faut déterminer les anticorps IgG ou les anticorps totaux Afin de déterminer l'immunité au virus de l'hépatite A. Contrairement au virus de l'hépatite B, il est impossible de contrôler si la personne a acquis son immunité après vaccination ou après une infection.* Elle a également remarqué que même si plusieurs laboratoires ont dilué l'échantillon afin d'obtenir un titre final, *ce titre final n'apporte aucune information supplémentaire.*

3.4. L'hépatite B

Un échantillon lyophilisé S/7225 a été envoyé.

Les tests d'hépatite A et B devaient être effectués sur les deux échantillons

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante: « Une femme se présente au Centre de vaccination. On décide de contrôler son statut immunitaire pour les hépatites A et B. »

Les résultats et interprétations attendues étaient pour l'hépatite B:

Ac Anti-HBs positif, Ag HBs négatif, Ac anti-HBc négatif

Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B

183 laboratoires ont renvoyé leur formulaire de réponse. Ils ont effectué 713 tests :

- Ag HBs: 179 tests
- Ac anti-HBs: 181 tests
- Ac anti-HBc: 170 tests
- IgM anti-HBc: 8 tests
- Ag HBe: 89 tests
- Ac anti-HBe: 86 tests

4 laboratoires ont effectué 1 test, 6 laboratoires 2 tests, 80 laboratoires 3 tests, 10 laboratoires 4 tests, 81 laboratoires 5 tests et 2 laboratoires 6 tests.

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ag HBs: AxSym HBsAg (Abbott) (29.1%), Architect HBsAg (Abbott) (15.1%), VIDAS HBsAg (bioMérieux) (8.9%), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (7.8%), Modular HBsAg (Roche) (7.3%) et Vitros ECi HBsAg (Ortho Diagnostics) (6.1%)
- Ac Anti-HBs: AxSym AUSAB (Abbott) (28.7%), Architect AUSAB (Abbott) (13.8%), VIDAS anti-HBs Total (bioMérieux) (8.8%), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (7.7%), Modular anti-HBs (Roche) (7.2%) et Vitros ECi anti-HBs (Ortho Diagnostics) (6.6%)
- Ac Anti-HBc totaux: AxSym CORE (Abbott) (28.2%), Architect CORE (Abbott) (13.5%), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (11.2%) et Modular anti-HBs (Roche) (7.1%)
- Ac Anti-HBc IgM: AxSym CORE-M (Abbott) (37.5%), VIDAS HBc IgM II (bioMérieux) (25.0%) et Vitros ECi anti-HBc IgM (Ortho Diagnostics) (25.0%)
- Ag HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (40.4%), AxSym HBe 2.0 (Abbott) (24.7%), Architect HBeAg (Abbott) (13.5%) et LIAISON HBeAg (Diasorin) (12.4%)
- Ac Anti HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (37.2%), AxSym anti-HBe (Abbott) (26.7%), Architect anti-HBe (Abbott) (15.1%) et LIAISON anti-HBe (Diasorin) (12.8%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit : 99.4% des participants ont trouvé l'antigène HBsAg négatif; tous ont trouvé les anticorps anti-HBs positifs, les anticorps anti-HBc totaux négatifs , les anticorps anti-HBc IgM négatifs et l'antigène HBe négatif ; 98.8% ont trouvé les anticorps anti-HBe négatifs .

94.5% des participants ont fourni l'interprétation correcte «Immunité vaccinale au virus de l'hépatite B». 1 laboratoire (0.5%) a préféré « Immunité par infection naturelle par le virus HBV »; 3.8% se sont limité à « Immunité » sans faire distinction entre les 2 causes possibles. 1.1% des participants n'ont pas fourni d'interprétation étant donné qu'ils n'ont effectué qu'un nombre limité de tests, qui ne permet pas d'effectuer une interprétation.

Dans le commentaire sur l'enquête la rédactrice a précisé que *l'immunité au virus de l'hépatite B est contrôlée par la détermination de la présence des anticorps anti-HBs*. Le résultat de ce test fournit une information au sujet de l'immunité du patient sans plus. *La présence ou l'absence des anticorps anti-HBc permet de savoir si l'immunité a été obtenue suite à une infection (AcHBs +, AcHBc +) ou suite à une vaccination (AcHBs +, AcHBc-)*. Quand un patient se présente à la consultation pour la vaccination des voyageurs, on peut défendre la stratégie de ne déterminer que les anticorps anti-HBs.

Elle a également remarqué que même si plusieurs laboratoires ont dilué l'échantillon afin d'obtenir un titre final, *ce titre final n'apporte aucune information supplémentaire*.

3.5. La syphilis

1 échantillon lyophilisé, S/6980, a été envoyé pour effectuer la détermination des anticorps anti- tréponémiques.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante : « L'échantillon que vous recevez pour le contrôle de qualité a été prélevé dans le cadre d'un don de sang. »

L'interprétation attendue était : « Présence d'anticorps : un diagnostic de syphilis active doit être éliminé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques et du suivi sérologique ».

174 laboratoires ont participé à cette enquête.

Ils ont effectué 371 tests, à savoir 209 tests tréponémiques (dont 7 ne déterminent que les IgM ; les autres 202 déterminent les IgG ou les anticorps totaux) et 162 tests aspécifiques non-tréponémiques .

7 laboratoires ont effectué 1 test, 143 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests et 6 laboratoires ont effectué 4 tests.

71.4% des laboratoires effectuant 1 test, ont utilisé un test tréponémique; 95.8% des laboratoires effectuant plus d'un test ont utilisé la combinaison de tests tréponémiques et non-tréponémiques et 4.2% uniquement des tests tréponémiques.

Les trousse les plus utilisées sont Serodia TPPA (Fujirebio) (44.2%), Murex Syfacard-R (Abbott) (22.4%), RPR Carbon (Reaction Spinreact) (13.2%), RPR nosticon (bioMérieux) (10.9%), TPHA (Lameris) (9.2%), Macro-Vue RPR Card test (Becton Dickinson) (9.2%) et Trepo-Spot IF (bioMérieux) (7.5%).

(% exprimé en fonction du nombre de laboratoires participants).

Les laboratoires utilisant au moins 1 test tréponémique pour les IgG ou les anticorps totaux ont obtenu des résultats positifs avec toutes les trousse utilisées. 5 des 7 laboratoires déterminant les IgM ont obtenu également un résultat positif pour ce test, 2 laboratoires ont obtenu des résultats borderline.

97.5% des laboratoires utilisant au moins 1 test non-tréponémique ont obtenu des résultats positifs avec toutes les trousse utilisées, 1.9% des résultats négatifs et 0.6% (1 laboratoire) n'a pas fourni d'interprétation qualitatif du résultat quantitatif obtenu.

151 (86.8%) laboratoires ont donné l'interprétation (correcte) « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection **active** (non traitée) ; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique ».

18 (10.3%) laboratoires ont choisi « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection **non-active**; le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, de données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique ».

Les autres 2.9% des laboratoires n'ont pas fourni d'interprétation basée sur le(s) test(s) qu'ils ont effectué mais ont mentionné que des tests supplémentaires sont nécessaires.

Le commentaire sur l'enquête a souligné **l'intérêt de l'exécution des tests tréponémiques et non-tréponémiques**; ces derniers ont surtout leur intérêt dans le suivi du traitement: si le traitement est efficace, le titre des anticorps des TNT diminuera d'au moins 2 dilutions au cours de la première année après le traitement. La comparaison des titres doit se faire sur des échantillons accouplés. Le commentaire a également rappelé le **phénomène pro-zone**, qui peut se produire si on teste des sérums avec des titres élevés; les résultats faux négatifs obtenus par certains laboratoires pour les tests non-tréponémiques étaient plus que probable dus à ce phénomène. Le commentaire a accentué que **les laboratoires doivent être attentifs à la possibilité d'un phénomène pro-zone quand un échantillon est positif pour les tests tréponémiques et négatif pour les tests non-tréponémiques (ou vice versa)**. S'ils sont confrontés avec de tels résultats, il est indiqué d'effectuer d'une dilution sérielle de l'échantillon afin d'exclure ce phénomène.

La **grande variation entre les titres était également à noter**. Il est conseillé pour les laboratoires qui divergent largement de la médiane de revoir leur procédure. S'ils ne trouvent aucune faute dans les procédures, ils devraient **contacter la firme en question** pour examiner ces variations extrêmes.

L'examen de la trousse avec le plus grand nombre d'utilisateurs (Serodia TPPA) par la firme (Fujirebo) nous a appris que **la dispersion ne peut pas être expliquée par des variations entre les différents lots**: Fujirebio a analysé l'échantillon avec 3 lots différents et obtenu 3 fois un titre de 1/2560. La firme insiste sur l'importance de **suivre scrupuleusement l'insert et de rincer soigneusement les "compte-gouttes"** des trousse (pour éviter une contamination) et de **veiller à effectuer les dilutions de manière précise**. De plus, l'interprétation des résultats doit se faire de façon univoque; le titre est la dilution à laquelle on voit encore de façon évidente un « tapis ».

L'interprétation correcte était: « Présence d'anticorps suggestifs d'une infection **active** (non traitée); le diagnostic doit être confirmé sur base de l'anamnèse, des données cliniques, d'investigations cliniques et paracliniques, et, du suivi sérologique »

En effet la **présence de titres élevés pour les tests tréponémiques et non-tréponémiques doit soulever la suspicion d'une syphilis active**. Il est cependant impossible de distinguer une syphilis récemment traitée d'une syphilis non-traitée sur seule base des résultats sérologiques. Une sérologie positive, suggestive d'une syphilis active doit toujours être interprétée en fonction des résultats cliniques et anamnestiques, et des résultats sérologiques précédents.

3.6 La Brucella

Il y avait 1 échantillon lyophilisé, S/1875, pour y effectuer la détermination des anticorps anti-Brucella.

L'échantillon était accompagné de l'information clinique suivante :

« Fièvre d'origine inconnue chez un fermier avec un grand cheptel. »

L'interprétation attendue était : « Absence d'anticorps. »

95 laboratoires ont participé à cette enquête.

Ils ont effectué 132 tests, à savoir 74 tests pour la détermination des anticorps totaux, 3 tests pour les IgM spécifiques, 3 tests pour les IgG spécifiques, 45 tests de Rose-Bengal et 7 tests de Wright .

7 laboratoires ont effectué 1 test, 143 laboratoires ont effectué 2 tests, 18 laboratoires ont effectué 3 tests et 6 laboratoires ont effectué 4 tests.

54.6% des laboratoires effectuant 1 test, ont effectué un test de Rose Bengal et 39.1% ont déterminé les anticorps totaux; 45.1% déterminant les anticorps totaux ont recherché les anticorps aussi bien contre B. abortus que contre B. mellitensis, 43.1% n'ont recherché que les anticorps anti-B. abortus.

Les trousseaux les plus utilisés sont :

- Ac. totaux: Stained Suspension Brucella abortus SS14 (Remel, distributeur Oxoid) (29.7%), Stained Suspension Brucella mellitensis SS15 (Remel, distributeur Oxoid) (24.3%) et Stained Febrile Ag Brucella abortus (Diamondial, distributeur Biotrading) (12.2%)
- Rose Bengal: Brucella Rose Bengal (Biorad) (84.4%)
- Wright: Brucella Wright (Biorad) (100%)

Pour les anticorps totaux, 92.2% des laboratoires ont fourni la réponse « négatif » pour toutes les trousseaux qu'ils ont utilisées. Pour le test de Rose Bengal il n'y a que 42.2% des laboratoires qui ont obtenu un résultat négatif, mais 44.4% ont trouvé un résultat positif et 13.3% un résultat borderline. La plupart de ces résultats « non-négatifs » a été obtenu avec la trousse Rose Bengal de Biorad; la firme a examiné l'échantillon; leur conclusion est :

« Wright et Rose Bengale sont des techniques différentes avec des sources d'antigènes différentes.

Avec ce sérum nous obtenons des résultats très faiblement positifs avec les 2 techniques.

Du fait de la source d'antigènes différentes et des résultats positifs trouvés avec les 2 techniques nous pouvons évoquer un éventuel problème avec ce sérum pouvant venir de sa lyophilisation et sa réhydratation ensuite qui peut donner dans certains cas une image « agrégats » pouvant être confondue avec une réaction faiblement positive.

En aucun cas ce résultat ne remet en cause la qualité de nos produits. »
57% des laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour le test de Wright.

94 laboratoires ont fourni une interprétation; 64.9% d'entre-eux ont répondu « Absence d'anticorps »; 3.2% ont mentionné l'absence de certains anticorps (IgM, anti-B. abortus) avec la nécessité d'effectuer un (des) contrôle(s) (éventuellement d'autres anticorps); 25.5% ont fourni la réponse « Présence d'anticorps »; 6.4% ont nuancé la présence des anticorps (valeur limite, titre faible, résultat douteux,...)

52.4% des laboratoires ayant répondu « Absence d'anticorps » ont conseillé d'effectuer une confirmation (nouveau prélèvement, tests complémentaires ou les 2).

Le commentaire concernant cette enquête a rappelé les principes du diagnostic de la brucellose. Pour le diagnostic de la brucellose humaine, **les tests au Rose Bengale et ELISAs sont les meilleurs tests capables de couvrir les infections aiguës et chroniques** avec un bon niveau de sensibilité. Le **diagnostic des brucelloses aiguës** est facilité par la **haute concentration en anticorps** induite à ce stade de la maladie, alors que le diagnostic de la brucellose chronique est rendu difficile par des titres en anticorps parfois faibles et donc indétectable à l'aide de certaines techniques sérologiques. Nous conseillons donc **le test ELISA IgG pour le diagnostic des brucelloses chroniques**. En cas de **résultat positif obtenu à l'aide d'un test d'agglutination**, il est toujours de bon conseil de **tester le même échantillon à l'aide d'un ELISA**. Si celui-ci s'avère **négatif**, nous concluons à une **réaction faussement positive du test d'agglutination**, alors que **s'il est positif**, nous devons conseiller de **réaliser une hémoculture**. La prise d'un **second échantillon** ne se justifie que pour le **diagnostic des brucelloses aiguës**. Un second prélèvement effectué 2 à 3 semaines après le premier devrait alors apporter une réponse définitive.

3.7. VIH

Deux plasmas liquides ont été envoyés, S/6621 et S/6978.

L'échantillon S/6978 était positif et l'échantillon S/6621 était négatif pour les anticorps anti-VIH.

181 laboratoires ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 204 tests de dépistage sur l'échantillon S/6621: 158 laboratoires ont effectué 1 test et 23 laboratoires 2 tests. En outre 13 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA (qui détermine simultanément les anticorps anti-VIH et l'Ag p24). Un laboratoire a effectué le GENELABS HIV 2.2 BLOT.

Les laboratoires ont effectué 208 tests de dépistage sur l'échantillon S/6978: 154 laboratoires ont effectué 1 test et 27 laboratoires 2 tests. En outre 13 laboratoires ont répondu le résultat de l'antigène p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et 3 laboratoires ont déterminé l'Ag p24 sur cet échantillon avec la trousse VIDAS HIV p24 II ; 2 laboratoires ont effectué un test de confirmation avec la trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT et 2 avec la trousse Inno-LIA HIV Confirmation.

Les réactifs les plus utilisés sont AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (24.5% et 24.0% pour les 2 échantillons), VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (11.8% et 13.5% pour les 2 échantillons) et Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (11.3% et 11.1% pour les 2 échantillons).

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/6621 : il a été considéré négatif par 172 laboratoires (95.0%). 4 (2.2%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et 1 (0.5%) un résultat borderline; 4 laboratoires (2.2%) ont obtenu des résultats différents (positif et négatif ou borderline et négatif) avec les 2 techniques qu'ils ont utilisées.

Les 9 résultats "non-négatifs" (7 positifs et 2 borderline) ont tous été obtenus avec la trousse AxSYM HIV-1/2g O kit (Abbott). L'examen par la compagnie n'a pas pu confirmer le résultat faux positif. Ils ont cependant remarqué que l'échantillon avait un léger trouble qui disparaissait après centrifugation, comme prescrit dans l'insert. Ils donnent donc le conseil suivant:

"According to the Package Insert, if after initial separation, specimens contain clots, red blood cells or particulate matter, **they must be clarified by centrifugation** of at least 10,000 x g for ten minutes prior to testing to avoid inconsistent results. In addition, **each specimen that requires repeat testing or that has been frozen and thawed must be** transferred to a centrifuge tube and **centrifuged** at a Relative Centrifugal Force (RCF) of at least 10,000 x g for ten minutes. Transfer clarified specimen to a sample cup or secondary tube for testing."

L'antigène p24 a été trouvé négatif par tous les laboratoires participants. 174 laboratoires n'enverraient pas l'échantillon en routine au centre de référence ; seuls les laboratoires ayant répondu des résultats positifs ou borderline enverraient l'échantillon au centre de référence.

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/6978 : il a été considéré comme positif par tous les laboratoires.

Les laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 de la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé »; contrairement à l'année passée, il s'avère que **pour la plupart des laboratoires il est clair que la réponse « ND » signifie** qu'une forte réaction pour la détermination des anticorps peut empêcher la détermination de l'Ag p24 et **qu'une conclusion adéquate au sujet de cet antigène est impossible avec ce test**; l'ag p24 doit donc être déterminé avec une autre technique.

Les résultats de la trousse VIDAS HIV p24 II était tous négatifs avec une valeur de <3 pg/ml.

Les résultats des trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT et Inno-LIA HIV Confirmation étaient positifs.

177 laboratoires enverraient l'échantillon en routine au centre de référence; les 4 laboratoires (luxembourgeois) qui ne l'enverraient pas, sont les laboratoires ayant effectué les tests de confirmation ou ont mentionné être un LRS eux-mêmes.

Le commentaire a discuté les **tests de recherche combinée des anticorps (VIH-1 et -2) et de l'antigène p24** du VIH-1. Ceci permet d'établir un **diagnostic plus précoce au moment où le patient n'a pas encore développé d'anticorps**. Sur les 181 laboratoires ayant participé à l'enquête, 59 laboratoires ont utilisé un seul test qui ne détecte que les anticorps. Il faut être conscient que ceci diminue la sensibilité du dépistage, mais l'importance de ceci dépend du contexte clinique d'utilisation. Ce n'est pas acceptable pour la sélection de donneurs d'organes par exemple.

En plus le commentaire a souligné qu'un résultat est considéré comme **positif ou douteux** lorsque ce résultat est **répétable avec la même trousse**. Cela signifie que tout résultat positif ou douteux doit être répété avec le même test (de préférence en double), pour être certain du résultat. Deux répétitions négatives indiquent un résultat négatif ; si une des répétitions est positive ou douteuse, l'échantillon est envoyé pour confirmation. **La seule utilisation d'une trousse différente ne peut être considérée comme une confirmation dans un sens comme dans l'autre.**

IV LE REJET DES ECHANTILLONS NON-CONFORMES

A l'occasion de l'enquête 2007/3 les laboratoires belges ont reçu également un questionnaire concernant le traitement des échantillons non-conformes. 165 laboratoires ont répondu à ce questionnaire. Huit laboratoires n'ont pas renvoyé le formulaire de réponse.

116 laboratoires (70.3%) disposent de procédures dans le laboratoire pour le rejet d'échantillons non-conformes; 46 (27.9%) n'en disposent pas; dans 2 laboratoires (1.2%) ces procédures sont en cours de rédaction.

75 laboratoires (45.5%) disposent de procédures envers les prescripteurs pour le rejet d'échantillons non-conformes; 83 (50.3%) n'en disposent pas; dans 3 laboratoires (1.8%) ces procédures sont en cours de rédaction.

Si nous comparons les réponses à ces 2 questions nous constatons que:

- 73 laboratoires (44.2%) disposent de procédures aussi bien dans le laboratoire qu'envers les prescripteurs
- 39 laboratoires (23.6%) disposent de procédures dans le laboratoire mais pas envers les prescripteurs
- 1 laboratoire (0.6%) dispose de procédures envers les prescripteurs mais pas dans le laboratoire
- 44 laboratoires (26.7%) n'ont ni de procédures dans le laboratoire, ni de procédures envers les prescripteurs
- dans 2 laboratoires (1.2%) les 2 procédures sont en cours de rédaction; 1 laboratoire (0.6%) dispose déjà de procédures dans le laboratoire mais les procédures envers les prescripteurs sont encore en cours de rédaction

Dans 55.4% des laboratoires les procédures pour les prescripteurs sont disponibles aussi bien sur papier que par voie électronique ; dans 23.0% uniquement sur papier et dans 16.2% uniquement par voie électronique.

Même s'ils ne disposent pas de procédures formelles pour le rejet des échantillons non-conformes, la plupart des laboratoires semblent quand même rejeter (certains) échantillons non-conformes. En cas de non-traitement d'un échantillon non-conforme, 53.5% des laboratoires avertissent le prescripteur par téléphone et/ou sur le rapport ; 28.7% uniquement sur le rapport et 10.8% uniquement par téléphone.

S'ils traitent quand même les échantillons non-conformes, 149 laboratoires (90.3%) mentionnent sur le rapport que le résultat est à interpréter avec réserve.