

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 2009

**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.wiv-isp.be/ClinBiol/bckb33/activities/external_quality/rapports/_fr/rapports_annee.htm

ISP/2009/Micro./Sero./Para. 77

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 : kris.vernelen@wiv-isp.be
Dr. BOEL An : 053/72.47.85 - FAX : 053/72.45.88
: e-mail : an.boel@olvz-aalst.be
Dr. CLAEYS Geert : 09/332.36.45 – FAX : 09/332.49.85
: 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. MAGERMAN Koen : 011/30.97.40 – FAX : 011/30.97.50
: e-mail : koen.magerman@jessazh.be
Dr. NAESSENS Anne : 02/477.50.02 – FAX : 02/477.50.15
: e-mail : anne.naessens@uzbrussel.be
Dr. PADALKO Elizaveta : 09/332.21.08 – FAX : 09/332.49.85
: e-mail : elizaveta.padalko@uzgent.be
Dr. REYNDERS Marijke : 050/45.39.27 – FAX : 050/45.26.19
: e-mail : marijke.reynders@azsintjan.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

I. MICROBIOLOGIE

Trois enquêtes ont été organisées en 2009 dans le cadre de l'EEQ en microbiologie. 176 laboratoires ont participé à au moins une enquête. 1 laboratoire (0.6%) a participé à 1 enquête, 3 laboratoires (1.7%) ont participé à 2 enquêtes et 172 (97.7%) ont participé aux 3 enquêtes. Deux laboratoires ont cessé leurs activités au cours de l'année et un laboratoire s'est inscrit tardivement. La participation des laboratoires s'élève respectivement à 175, 174 et 174 pour chacune des enquêtes.

Les types de laboratoires sont répartis comme suit : 113 laboratoires hospitaliers, 49 laboratoires privés, 5 laboratoires de polycliniques et 9 autres laboratoires.

1.1. Rapport de l'identification des cultures

1.1.1. Répartition des résultats par échantillon.

Les participants ont reçu 12 échantillons lyophilisés.

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

Lors de la 2^e enquête nous avons envoyé une *Granulicatella adjacens* à des fins didactiques. Lors de la 3^e enquête nous avons envoyé un *Vibrio cholerae* également à des fins didactiques. Ces échantillons n'ont pas été pris en compte dans l'évaluation des laboratoires. Pour le *Pseudallescheria boydii* (lésion cutanée; enquête 2009/3), une identification jusqu'au niveau du genre était suffisante. Les réponses « champignon/moisissure » ont également été acceptées à condition que les laboratoires ayant donné cette réponse, envoient en routine cette souche pour identification.

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

Germe	% d'identifications acceptables
<i>Escherichia coli</i> (hémoculture)	99.4
<i>Klebsiella oxytoca</i> (hémoculture)	98.9
<i>Streptococcus pyogenes</i> (expectoration)	100.0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (urine)	99.4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	99.4
Absence de pathogènes (expectoration)	88.5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (hémoculture)	98.9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (hémoculture)	100.0
<i>Staphylococcus aureus</i> (hémoculture)	100.0
<i>Pseudallescheria boydii</i> / <i>Scedosporium apiospermum</i> (lesion cutanée)	90.2

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

Chaque laboratoire a dû réaliser 10 identifications. 139 (79.0%) laboratoires ont des réponses correctes ou acceptables pour toutes les identifications. 37 (21.0%) 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 = 176)
0	139 (79.0%)
1	32 (18.2%)
2	5 (2.8%)

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 = 176)
0	138 (78.4%)
1	32 (18.2%)
2	5 (2.8%)
3	0
4	1 (0.6%)

1.2. Evaluation des tests de sensibilité

Les sensibilités de 6 germes, *Escherichia coli* M/5646, *Klebsiella oxytoca* M/8836, *Pseudomonas aeruginosa* M/8535, *Klebsiella pneumoniae* M/9375, *Staphylococcus aureus* M/7570 et *Pseudomonas aeruginosa* M/9720 ont été testées vis-à-vis d'une série particulière d'antibiotiques.

1.2.1. Escherichia coli M/5646

Ce germe était porteur d'un **BLSE**.

Le commentaire de l'enquête a discuté des BLSE.

En résumé les **BLSE** sont des **β -lactamases** dont a. **le spectre d'activité est élargi et inclut les β -lactamines à spectre élargi** (céphalosporines de 3^e et 4^e génération, aztréoname), b. **le gène responsable est présent sur un plasmide** et c. **l'activité est neutralisée par un inhibiteur des β -lactamases**.

La plupart des BLSE sont dérivées des β -lactamases TEM et SHV. Entre-temps la définition des BLSE a été élargie.

Depuis quelques années un **groupe nouveau de BLSE** est apparu, qui diffère par certains aspects des BLSE TEM et SHV, à savoir les **BLSE CTX-M**.

Une première caractéristique est le **profil de résistance**: grâce à leur structure moléculaire spécifique ils créent **une résistance plus nette aux céfotaxime/ceftriaxone qu'à la ceftazidime** (parfois aussi à l'aztréoname); sans règles d'expertise on les considérerait souvent comme sensible à la ceftazidime.

Une deuxième caractéristique est l'**épidémiologie** de ces enzymes codés par des plasmides: ils sont retrouvés **beaucoup plus souvent chez les *E.coli* que chez les autres espèces** (*K.pneumoniae* et *E.aerogenes* étaient les producteurs les plus fréquents de TEM et SHV) et les producteurs sont moins liés aux hôpitaux et centre de soins. Les *E.coli* CTX-M peuvent être retrouvés parmi la population 'normale; dans certaines régions on a déjà retrouvé 5 % de porteurs ; ils sont également retrouvés chez la volaille et d'autres animaux.

On suspecte la présence des BLSE grâce à la **combinaison des caractéristiques suivantes: une sensibilité diminuée aux β -lactamines à spectre élargi et une neutralisation (partielle ou complète) par les inhibiteurs des β -lactamases.**

La recherche est effectuée en **1 ou 2 étapes** et on utilise : **une valeur de CMI augmentée pour certaines β -lactamines**, sans qu'ils se retrouvent nécessairement dans la zone de non sensibilité (dépistage), **ET l'activité synergique de l'acide clavulanique avec les β -lactamines à spectre élargi (confirmation)**: la céfotaxime, la ceftazidime, l'aztréoname ou la céfépime sont testés avec ou sans acide clavulanique: la CMI est déterminée et comparée avec et sans l'inhibiteur, ou les zones d'inhibition sont comparées autour des disques, ou on recherche des « bouchons de champagne, zones fantômes .. » entre les disques avec une céphalosporine et un disque avec l'amoxycilline-acide clavulanique.

EUCAST est l'initiative pour l'utilisation de breakpoints communs pour toute l'Europe. Ces valeurs sont disponibles gratuitement sur leur site web: <http://www.eucast.org>

Les nouveaux breakpoints reposent sur des réalités pharmacodynamiques, et sont abaissés pour un grand nombre d'antibiotiques. A plusieurs reprises on a répété que la diminution des breakpoints rendra la recherche des BLSE (et l'utilisation d'autres règles d'expertise) inutile. Cependant nous pouvons lire dans les tableaux : « Certains labos peuvent préférer de rechercher les BLSE. » Dans les règles d'expertise nous retrouvons: en cas d'un résultat positif, un résultat S doit être modifié en I, et un résultat I en R (sic!).

Cfr. également le commentaire de la *Klebsiella oxytoca* M/8836 concernant les règles d'expertise et la conclusion finale.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2009/1.

Tableau 1.2.1. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/5646 (*E. coli*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Amoxicilline	R	81	-	-	81	-
Ampicilline ¹	R	57	-	-	57	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	173	2	49	121	1 ⁵
Pipéracilline-tazobactam	R	159	88 ⁶	20 ⁷	50 ⁸	1 ⁹
Ceftazidime	R	171	9	41	121	-
Ceftriaxone	R	70	-	-	70	-
Céfotaxime ²	R	26	-	-	26	-
Céfépime ³	R	3	-	-	3	-
Gentamicine	R	162	1	-	160	1 ¹⁰
Amikacine	S	170 ¹¹	164	2	4	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	147	-	-	147	-
Lévofloxacine	R	21	-	-	21	-
Moxifloxacine	R	1	-	-	1	-
Norfloxacine	R	7	-	-	7	-
Ofloxacine	R	12	-	-	12	-
"Quinolone" ⁴	R	2	-	-	2	-

1 Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ampicilline au lieu de l'amoxicilline.

2 Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftriaxone

3 Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la céfépime au lieu de la ceftriaxone

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

5 Un laboratoire a fourni le résultat brut (« I ») mais a laissé ouvert le résultat final.

6 Deux laboratoires ont donné une remarque:

- mais à surveiller car BLSE +; mieux donner méropénème
- non conseillé

7 Un laboratoire a donné une remarque: « La CLSI ne propose pas de directives pour la combinaison β -lactam/inhibiteur en cas de BLSE. L'Eucast mentionne "remane controversial"→ceci devrait être communiqué au clinicien ».

8 Deux laboratoires ont donné une remarque: « Selon un nombre de publications récentes cet antibiotique pourrait avoir un effet clinique favorable en cas d'infections systémiques ».

9 Un laboratoire a fourni le résultat brut (« S ») mais a laissé ouvert le résultat final.

10 Un laboratoire a fourni le résultat brut et expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.

11 Un laboratoire a donné une remarque: « Parce que Nétilmycine S ».

1.2.2. *Klebsiella oxytoca* M/8836

Ce germe était un K1 hyperproducteur.

Le commentaire de l'enquête a discuté ces hyperproducteurs.

Les mutants **hyperproducteurs** des entérobactériacées se développent fréquemment chez les espèces classiquement '**inductibles**' (surtout *Enterobacter spp.*, mais également *Morganella*, *Citrobacter*, *Serratia...*), mais dans une moindre mesure également chez *E.coli* et *K.oxytoca*, et presque jamais chez *Proteus mirabilis* ou *Salmonella*. Pour toutes ces mutations nous remarquons une sensibilité diminuée aux β -lactamines.

Selon la nature de la β -lactamase chromosomique, on peut ou non détecter une synergie avec les inhibiteurs de β -lactamase: pour les enzymes sensibles à l'acide clavulanique nous obtenons un profil BLSE (faux +); en cas de résistance à l'acide clavulanique, il n'y a logiquement pas de synergie (les tests de BLSE sont négatifs) et nous parlons d'un profil amp-C. On retrouve un exemple de ce dernier mécanisme chez les souches *E.coli* hyperproductrices. Nous retrouvons l'exemple le plus clair du premier mécanisme chez les *K.oxytoca* hyperproducteurs: l'enzyme qui est présent est un **K1- ou KOXY-enzyme, les tests des doubles disques sont parfois positifs (mais pas pour la ceftazidime), mais la ceftazidime est remarquablement sensible et la piperacilline/tazobactam est typiquement résistant.**

Il existe d'autres entérobactériacées, plus rares, avec de tels profils BLSE faux positifs. Il ne faut pas appliquer les règles de BLSE pour ces phénotypes, et on, peut donc utiliser et répondre les résultats bruts de l'antibiogramme sans les modifier.

De plus en plus il faut donc être un **expert**, ou utiliser des **systèmes d'expertise** afin de pouvoir pronostiquer le succès d'une thérapie antibiotique sur base de l'antibiogramme. Une partie de ces règles d'expertise sont des indications pour des problèmes éventuelles de résistance clinique qui peuvent surgir, même si la technique d'antibiogramme utilisée et les breakpoints ont indiqué que la souche est sensible.

Un problème est qu'il existe beaucoup de règles; mais qu'elles sont soutenues différemment selon, l'autorité, la source, « l'école ».

La recherche de la résistance par des techniques qui diffèrent de la technique de base est très apparentée aux règles d'expertise. Quelques exemples : l'utilisation des disques d'oxa-1 ou de céfoxitine pour détecter la résistance à la méthicilline, les techniques par doubles disques, les milieux vancomycine-screen,...

En résumé :

La **résistance** ou la prédiction d'un échec thérapeutique d'une thérapie antibiotique repose sur :

- **Une résistance détectée avec les techniques classiques**
- **Des règles d'expertise conseillés part toutes ou la plupart des organisations**
- **D'autres règles d'expertise qui sont beaucoup moins universelles**

Il reste au microbiologiste la tâche importante mais difficile de discuter ce sujet d'une manière adéquate avec les médecins traitant (modification des résultats bruts, ajout de commentaires (automatiquement ou non, par le LIS) et/ou contact téléphonique).

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2009/1.

Tableau 1.2.2. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8836 (*Klebsiella oxytoca*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Amoxicilline	R	81	-	-	81	-
Ampicilline ¹	R	57	-	-	57	-
Amoxicilline-acide clavulanique	R	174	2	18	153	1 ⁵
Pipéracilline-tazobactam	R	159	-	-	158	1 ⁶
Ceftazidime	S	171	145	3	23	-
Ceftriaxone	I	67	11	18	38	-
Céfotaxime ²	S	28	25	2	1	-
Céfépime ³	S	2	1	-	1	-
Gentamicine	S	161	157	2	1	1 ⁷
Amikacine	S	171	170	1	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	I/R	146	5	27	114	-
Lévofloxacine	I/R	21	5	13	3	-
Moxifloxacine	I/R	1	-	-	1	-
Norfloxacine	I/R	7	-	1	6	-
Ofloxacine	I/R	12	-	5	7	-
"Quinolone" ⁴	I/R	2	1	1	-	-

1. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ampicilline au lieu de l'amoxicilline.
2. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la céfotaxime au lieu de la ceftriaxone
3. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la céfépime au lieu de la ceftriaxone
4. Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.
5. Un laboratoire a fourni le résultat brut et expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.
6. Un laboratoire a fourni le résultat brut et expert (« R ») mais a laissé ouvert le résultat final.
7. Un laboratoire a fourni le résultat brut et expert (« S ») mais a laissé ouvert le résultat final.

1.2.3. Pseudomonas aeruginosa M/8535

Il s'agissait d'un germe sensible: la grande majorité des laboratoires n'a donc pas eu de grands problèmes dans la détermination de l'antibiogramme. Cependant, quelques laboratoires ont obtenu un résultat intermédiaire ou résistant pour certains antibiotiques.

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2009/2.

Tableau 1.2.3. Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/8535 (*P. aeruginosa*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	S	159	145	11	1	2 ¹
Ceftazidime	S	171	170	-	1	-
Méropénème	S	157	157	-	-	-
Imipénème	S	86	86	-	-	-
Amikacine	S	170	170	-	-	-
Gentamicine	S	158	155	1	-	2 ²
Tobramycine	S	116	116	-	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	139	139	-	-	-
Lévofloxacine	S	15	15	-	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-	-
Norfloxacine	S	4	3	-	1	-
Ofloxacine	S	10	10	-	-	-
Péfloxacine	S	1	1	-	-	-
"Quinolone" ³	S	9	9	-	-	-

- 1 Deux laboratoires ont laissé ouvert le résultat final pour cet antibiotique. Un des 2 laboratoires a fourni le résultat brut (« S ») et expert (« I ») (méthode Vitek 2 compact); le deuxième a fourni le résultat brut et expert (« S ») (Vitek 2) mais a mentionné qu'il ne dispose pas de disques pour effectuer la détermination manuelle de l'antibiogramme.
- 2 Deux laboratoires ont laissé ouvert le résultat final pour cet antibiotique. Un des 2 laboratoires a fourni le résultat brut et expert (« S ») (Vitek 2 compact); le deuxième le résultat brut (« S ») (disques en papier).
- 3 Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.4. *Klebsiella pneumoniae* M/9375

Cette souche était une souche de *Klebsiella pneumoniae* multi-résistante et résistante à tous les antibiotiques incluant les carbapénèmes à l'exception de la colistine et de la gentamicine. Cette souche produisait une carbapénémase de type métallo- β -lactamase de type VIM-1 (Verona IMipenemase).

Cette souche présentait un profil de multi-résistance classique pour ce type de bactérie affectant l'ensemble des β -lactamines, les aminoglycosides (à l'exception de la gentamicine) et les fluoroquinolones. Une résistance de bas niveau était observée pour le meropenem (CMI = 4 μ g/ml, intermédiaire selon l'EUCAST mais encore sensible et à la limite du seuil de sensibilité selon les dernières recommandations du CLSI [M100-S19]), tandis que cette souche présentait une résistance à l'imipenem (CMI=16 μ g/ml). Seules la colimycine, la tigecycline et l'aztreonam gardaient encore une activité.

Un assez grand nombre de laboratoires ont souligné le caractère multi-résistant de la souche et ont soit reconnu soit suspecté la présence d'une carbapénémase en suggérant l'envoi de celle-ci dans un laboratoire de référence pour confirmation du mécanisme de résistance.

Le commentaire de l'enquête a souligné que **la sensibilité à la colistine doit être déterminée par mesure de la CMI par E-test, par automate ou en microdilution car la méthode des disques n'est guère fiable** à cause de la mauvaise diffusion de cette molécule à partir des disques en gélose. La plupart des laboratoires qui ont testé la colimycine (mais seulement environ la moitié des participants l'ont testée) ont correctement rapporté la souche comme sensible à cet antibiotique.

Un **screening de détection de la production d'une MBL** peut être facilement effectué à l'aide de **tests phénotypiques recherchant la présence d'une synergie entre l'imipenem et l'EDTA inhibiteur des carbapénémases de type MBL**. Vous pouvez retrouver une description des différents tests commerciaux disponibles en Belgique dans le rapport global de l'enquête (2009/2). Il n'existe **pas de recommandations formelles pour le changement ou pour l'interprétation du résultat brut pour de telles souches en cas de sensibilité conservée aux carbapénèmes**. Cependant, compte tenu de leur potentiel épidémique et du taux élevé de complication et de mortalité associée en cas d'infection (mortalité attribuable de 20%) il paraît **logique et important de rapporter leur caractère producteur de carbapénémase VIM** et de signaler la dangerosité potentielle de l'émergence de ces souches à l'hôpital.

Il est impératif de **confirmer le caractère producteur de carbapénémase** de type MBL (ou d'un autre type, p.ex. KPC) **de toute souche d'entérobactérie multi-résistante par des tests moléculaires**, qui dans notre pays, sont réalisés dans les laboratoires de plusieurs hôpitaux universitaires (Hôpital Erasme ULB, Cliniques Universitaires UCL-Mont-Godinne)

Le tableau ci-dessous a été publié dans le rapport global 2009/2.

Tableau 1.2.4.: Résultats des antibiogrammes effectués pour l'échantillon M/9375 (*Klebsiella pneumoniae*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	I/R	R	*
Méropénème	I	158	22 ¹	68	1	65	2 ²
Imipénème ³	(I)	5	-	2	-	3	-
Amikacine	I	170	69	88	-	12	1 ⁴
Gentamicine	S	160	158	1	-	1	-
Ciprofloxacine	R	168	-	-	-	168	-
Lévofloxacine	R	92	-	-	-	92	-
Ofloxacine ⁵	(R)	3	-	-	-	3	-
Colimycine	S	87	82	3	-	1	1 ⁶
Polymyxine ⁷	(S)	3	3	-	-	-	-

1. Un laboratoire (utilisateur du Vitek 2 compact) a fourni la remarque: « répondre S après contrôle par test de diffusion Rosco (Ø=21) »
2. Un laboratoire a répondu « sensibilité diminuée aux carbapénèmes ». Un autre a fourni le résultat brut (« I ») (Vitek 2 compact) mais a laissé ouvert le résultat final.
3. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu du méropénème.
4. Un laboratoire a fourni le résultat brut (« I ») (Vitek 2 compact) mais a laissé ouvert le résultat final.
5. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'ofloxacine au lieu de la ciprofloxacine et/ou la lévofloxacine.
6. Un laboratoire a fourni le diamètre, obtenu avec les disques en papier (11), mais a mentionné qu'il n'existe pas de normes CLSI.
7. Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à la polymyxine au lieu de la colimycine.

1.2.5. Staphylococcus aureus M/7570

Cette souche était un MRSA avec une hétéro-résistance à l'oxacilline, qui a été envoyée dans un but didactique. En plus de la remarque qu'il s'agissait d'un MRSA (que 60 laboratoires ont ajoutée à leur identification), un grand nombre de laboratoires ont pourvu leur réponse d'une remarque supplémentaire. Toutes ces remarques ont été reprises dans le rapport global de l'enquête.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que selon les tests réalisés au laboratoire de référence, la souche du contrôle de qualité était hétérogène pour la résistance à l'oxacilline (CMI = 12 mg/l). Cette résistance a été confirmée par la présence du gène *mecA* détectée par PCR.

La difficulté de mettre en évidence une telle hétéro-résistance a été prouvée par les résultats de l'enquête : seuls 106 (61%) laboratoires ont correctement détecté et rapporté le bas niveau de résistance à l'oxacilline. Cinquante-cinq laboratoires (31%) ont répondu la souche sensible, 10 laboratoires ont trouvé des résultats discordants entre les différentes méthodes testées mais ne les ont pas interprétés et 3 laboratoires n'ont pas répondu de résultat pour la méthicilline/oxacilline. Parmi les utilisateurs du système Vitek, 46% ont répondu la souche sensible à l'oxacilline. Au contraire, l'ensemble des utilisateurs du système Phoenix a correctement rapporté la souche résistante à l'oxacilline. Les laboratoires qui ont testé la sensibilité par disque ont rapporté la souche sensible (erreur très majeure) dans 61% des cas en utilisant l'oxacilline et dans 27% en utilisant la céfoxitine.

Le commentaire a également repris quelques directives d'EUCAST pour la détection de la résistance aux antibiotiques d'un *S. aureus*.

En 2010, l'EUCAST et le CLSI recommandent de tester la **sensibilité à l'oxacilline à l'aide d'un disque de céfoxitine 30 µg (résistance si < à 22 mm d'inhibition) sur une gélose Mueller-Hinton (MH) non supplémentée en NaCl, incubée à 35°C (± 1°C) pendant 16-20 heures**. L'utilisation d'un disque de céfoxitine est plus sensible pour détecter les **souches de *S. aureus* hétéro-résistantes**. Les automates testent la céfoxitine pour déterminer la sensibilité à l'oxacilline. Les souches peuvent également être confirmées par détection de la PBP2a par un test d'agglutination à l'aide d'un latex sensibilisé ou par PCR pour le gène *mecA*.

l'EUCAST a modifié en 2010 les **concentrations critiques de la vancomycine** (résistant si > 2 mg/l) **et de la teicoplanine** (résistant si > 2 mg/l).

Pour finir, le commentaire a décrit les trois réservoirs de MRSA: les souches associées à l'hôpital (hospital-associated MRSA, HA-MRSA), les souches associées à la communauté extrahospitalière (community-associated MRSA, CA-MRSA) et les souches associées aux animaux d'élevage (livestock-associated MRSA, LA-MRSA). Ces souches présentent des caractéristiques épidémiologiques et microbiologiques qui leur sont propres.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2009/3.

Tableau 1.2.5.: Résultats de l'antibiogramme de M/7570 (*Staphylococcus aureus*).

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pénicilline	R	165	3	1	158	3 ¹
Oxacilline	R	148	52 ²	1	92 ³	3 ⁴
Méthicilline	R	1	-	-	1	-
Céfoxitine ⁵	R	128	38 ⁶	-	85 ⁷	5 ⁸
Gentamicine	S	159	157	-	-	2 ⁹
Vancomycine	S	171	163 ¹⁰	1 ¹¹	3	4 ¹²
Quinolone						
Ciprofloxacine	R	110	2	-	107	1 ¹³
Lévofloxacine	R	45	-	-	45	-
Moxifloxacine	R	17	-	-	17	-
Norfloxacine	R	7	-	-	7	-
Ofloxacine	R	9	-	-	9	-
Quinolone ¹⁴	R	6	-	-	6	-

¹ Trois laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la pénicilline = R)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = I)
- 1 laboratoire a répondu les résultats bruts et experts (R) mais a laissé ouvert le résultat final

² Un laboratoire a donné le résultat « S » sur base des disques Rosco Neosensitabs mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

³ Certains laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- Résultat confirmé par PCR (gène mecA positif)
- Parallèle à l'antibiogramme Vitek2, une boîte "MRSA select" (Biorad) a été ensemencée. Résultat: MRSA: +
- Colonies dans la zone d'inhibition (borderline): →antibiogramme répété: R
- Lecture de la CMI au niveau des colonies repoussées (la CMI de la colonie repoussée a été réensemencée et était 16 µg/mL)
- Avec repousses

⁴ Trois laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de l'oxacilline = S)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)
- 1 laboratoire a répondu le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final

⁵ Pour les résultats de la céfoxitine screen sur Vitek 2 et Vitek 2 compact nous avons considéré « négatif » comme « S » et « positif » comme « R »

⁶ Un laboratoire a donné le résultat "S" sur base des disques en papier mais a mentionné dans une remarque: « Sur milieu MRSA (bioMérieux) présence de colonies R à oxa et limites à la céfoxitine: BORSA? »

⁷ Certains laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:

- + colonies qui repoussent
- croissance sur milieu MRSA de Biorad: →R à la céfoxitine; la zone est difficile à mesurer sur l'antibiogramme: seules quelques colonies ont repoussées autour de la céfoxitine
- Colonies dans la zone d'inhibition (borderline): →antibiogramme répété: R
- Tout diamètre de la céfoxitine 30 µg compris entre 20 et 24 mm. est contrôlé. Il est connu que des souches MRSA peuvent se situer dans cette gamme de diamètre.

⁸ Cinq laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la céfoxitine = I)
- 1 laboratoire a répondu qu'il s'agit d'une souche qui nécessite la recherche de la CMI (résultat brut = S)
- 3 laboratoires ont laissé le résultat final ouvert: un labo avec résultat brut « R », 1 labo avec résultat brut « négatif » et 1 avec un diamètre de 25 mm.

⁹ Deux laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:

- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la gentamicine = S)
- 1 laboratoire a répondu le résultat brut (S) mais a laissé ouvert le résultat final

¹⁰ Un laboratoire a pourvu la réponse « S » d'une remarque: « Les VISA's (hétéroresistante) ne sont pas détectés par l'E-test macrométhode ». Un laboratoire a répondu « S » sur base d'une extrapolation: « La zone d'inhibition de la céfoxitine 60 µg (Neosensitabs): >15 mm.: vancomycine S »

¹¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « I »: « L'E-test a été effectué avec suspensions de 2 McFarland et de 0.5 McFarland sur Mueller-Hinton »

- ¹² Quatre laboratoires n'ont pas fourni de résultat final:
- 1 laboratoire a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la vancomycine = S)
 - 1 laboratoire a répondu « E-test pour détection GISA/hGISA: vanco 6 et teico 3→ envoi au labo de référence »
 - 2 laboratoires ont mentionné qu'une détermination de la CMI est nécessaire.
- ¹³ Un laboratoire n'a pas fourni de résultat final:
- il a mentionné: répondre en fonction du résultat du centre de référence; suspicion MRSA (résultat brut de la ciprofloxacine = R)
- ¹⁴ Un certain nombre de laboratoires n'ont pas mentionné le nom de la quinolone utilisée.

1.2.6. *Pseudomonas aeruginosa* M/9720

Il s'agissait d'une souche qui était sensible à la plupart des antibiotiques; certaines méthodes ont cependant démontré une sensibilité intermédiaire (voire même une résistance) pour la pipéracilline-tazobactam et la ceftazidime. Quelques laboratoires ont également considéré que la souche était résistante au méropénème.

Le tableau suivant a été publié dans le rapport global 2009/3.

Tableau 1.2.6.: Résultats de l'antibiogramme de M/9720 (*P. aeruginosa*)

Antibiotique	Résultat attendu	Total	S	I	R	*
Pipéracilline-tazobactam	S/I	163	95 ¹	57 ²	10	1 ³
Ceftazidime	S	172	122	40	9	1 ³
Méropénème	S	160	155	-	4 ⁴	1 ³
Imipénème ⁵	S	4	4	-	-	-
Amikacine	S	172	172	-	-	-
Gentamicine	S	159	159	-	-	-
Tobramycine	S	118	118	-	-	-
Quinolone						
Ciprofloxacine	S	153	153	-	-	-
Lévofloxacine	S	12	12	-	-	-
Moxifloxacine	S	1	1	-	-	-
Norfloxacine	S	3	2	-	1	-
Ofloxacine	S	7	6	1	-	-
Péfloxacine	S	2	1	1	-	-
Quinolone ⁶	S	3	3	-	-	-

¹ Un laboratoire a ajouté une remarque à la réponse « S »: « Etant donné que le résultat de la dilution pour la pipéracilline-tazobactam sur Vitek était 64, la sensibilité a été confirmée par antibiogramme manuel (Saegeman et al, Acta Clinica Belgica 2005 60(1): 3-9). »

² Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « I »:
 - CMI 64 pour Pip-tazo→antibiogramme manuel. Développement de microcolonies à l'intérieur de la zone de sensibilité → changement de S en I en attendant les modifications apportées par EUCAST
 - Pipéracilline-tazobactam CMI 64. Directives CLSI: $\leq 64 = S \geq 128 = R$. Le système expert le modifie en R. Par précaution et tenant compte qu'avec les directives EUCAST cette valeur de la CMI deviendra R, la réponse I a été conservée.

³ Un laboratoire a laissé ouverts les résultats de ces 3 antibiotiques, mais a donné la remarque suivante: « Si sur le même antibiogramme on teste également l'imipénème on observe une forte induction de résistance sur Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime. En testant le Méropénem on observe dans la zone d'inhibition des colonies isolées. Retestées avec le même antibiotique la zone d'inhibition passe de 30 à 19 mm. Ces 2 phénomènes évoquent la présence d'une résistance inductible pour Pipéracilline+Tazobactam et Ceftazidime et la présence d'une carbapénémase. En conclusion nous ne pouvons recommander l'utilisation des 3 premiers antibiotiques soit: Pipéracilline+Tazobactam, Ceftazidime et Méropénem malgré une apparente sensibilité en vitro. »

⁴ Deux laboratoires ont ajouté une remarque à la réponse « R »:
 - 1 seule colonie a repoussé autour du méropénème: un nouvel AB a été ensemencé à partir de cette colonie: R au méropénème
 - Présence de colonies mutantes résistante au méropénème. Absence de carbapénémase de type VIM et IMP.

⁵ Un certain nombre de laboratoires ont déterminé la sensibilité à l'imipénème au lieu du méropénème

⁶ 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

Une suspension de selles formolées, P/8444 a envoyée.
170 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/8046 contenait kystes d'*Entamoeba dispar*. La présence d'*Entamoeba dispar* (qui ne peut pas être distinguée d'*Entamoeba histolytica* sur seule base de la morphologie) a été confirmée par PCR. Les réponses *Entamoeba histolytica/dispar* sont considérées comme correctes.

Entamoeba histolytica/dispar (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été répondu par 101 (59.4%) laboratoires. Les kystes ont été retrouvés par tous ces participants. Quatre (2.4%) laboratoires ont répondu *Entamoeba dispar*. La réponse *Entamoeba histolytica* a été fournie par 41 (24.1%) laboratoires.

A l'occasion de cette enquête, nous avons également demandé le diamètre du parasite, et avec quelle méthode les laboratoires l'avaient mesuré. 136 laboratoires ont répondu qu'ils ont mesuré le diamètre du parasite. 134 des 136 laboratoires ayant mesuré le diamètre, ont utilisé une méthode, un a utilisé 2 méthodes (micromètre oculaire et digital) et un laboratoire n'a pas mentionné la méthode utilisée. 133 des laboratoires utilisant une méthode ont utilisé un micromètre oculaire; un laboratoire a déterminé le diamètre par « comparaison avec la taille d'un globule rouge et d'un globule blanc ».

Le commentaire de l'enquête a discuté plus précisément la différenciation entre *E. histolytica* (pathogène) et *E. dispar* (non- pathogène) et l'importance de mesurer le diamètre.

l'OMS a établi des **directives** pour l'amélioration du diagnostic et du traitement. Les plus importantes sont:

- Quand un **laboratoire** retrouve des kystes, il **doit répondre: kystes d'*E. histolytica/dispar***. Seul un examen complémentaire peut différencier les 2 espèces.
- Chez les patients avec des kystes d'*E. dispar* dans les selles, il faut chercher une autre cause aux plaintes abdominales.

Chaque laboratoire belge est invité à **envoyer les échantillons**, dans lequel il a trouvé des kystes d'***E. histolytica/dispar***, à l'**IMT** pour effectuer la différenciation entre les 2 espèces. Cet examen est gratuit. On vous demande de mentionner vos propres résultats de microscopie sur le formulaire de demande et d'envoyer **suffisamment de selles non-fixées** pour effectuer un examen direct, un enrichissement et une détection d'antigène.

Les kystes d'*E. histolytica/dispar* sont ronds à ovales avec une taille de 10-20 µm. Ils contiennent 1-4 noyaux, en pratique d'habitude 1-2. La différence avec les kystes d'autres parasites fréquemment retrouvés se fait uniquement (*E. hartmanni*) ou partiellement (*E. coli*) sur base de la taille des kystes. Si on sait que les kystes d'*E. hartmanni* ont une taille de 5-10 µm et ceux d'*E. coli* une taille de 10 (15)-35 µm on comprend immédiatement l'importance **d'utiliser un bon oculaire micrométré** ou une méthode alternative pour mesurer les diamètres des kystes de façon précise.

2.2. Enquête 2

Deux suspensions de selles formolées, P/8557 et P/9273, ont été envoyées.

169 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/8557 contenait des œufs d'*Enterobius vermicularis*.

Enterobius vermicularis (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 152 (89.9%) laboratoires. 13 participants ont répondu comme stade d'évolution « œufs fécondés », 2 ont répondu « œufs non-fécondés », 1 « œufs fécondés et non-fécondés » et 135 se sont limités à « œufs » sans précision.

Le commentaire de l'enquête a mentionné que la reconnaissance des œufs ne pose d'habitude pas de problèmes (comme est montré par les résultats de l'enquête) mais que le problème dans la pratique clinique est plutôt de retrouver les œufs. La production des œufs est irrégulière et ils ne sont pas mélangés avec les selles. L'examen des selles est donc loin d'être idéal pour le diagnostic d'une infection aux oxyures. Il est préférable d'utiliser le « **scotch tape test** » où **un morceau de ruban adhésif (en cellulose) est collé d'abord sur la peau périanale et après sur une lame pour examen microscopique. L'idéal est d'effectuer ce test le matin, immédiatement après que le patient se soit réveillé** et avant qu'il se soit lavé ou qu'il soit allé aux toilettes. La répétition du « scotch tape test » augmente la probabilité de retrouver les œufs. Il est également possible de distinguer les vers macroscopiquement sur les selles ou la peau périanale.

L'échantillon P/9273 contenait des oocystes d'*Isospora belli*.

Isospora belli (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 158 (93.5%) laboratoires. Les oocystes ont été retrouvés par 129 participants.

Cet échantillon a déjà été envoyé lors de l'enquête 2008/2 sous le numéro P/8315.

Le tableau suivant présente la comparaison des résultats des 2 enquêtes.

Tableau 2.1. Comparaison des résultats pour les échantillons P/8315 (2008/2) et P/9273 (2009/2) (*Isospora belli*)

Enquête	% labos avec résultat <i>I. belli</i>	% labos avec résultat <i>I. belli</i> ayant répondu le stade d'évolution oocyste
P/8315	95.3	86.0
P/9273	93.5	81.6

2.3. Enquête 3

Deux frottis sanguins, P/9334 et P/9683, ont été envoyés.

182 laboratoires ont participé à cette enquête.

L'échantillon P/9334 contenait des microfilaires de *Loa loa*.

Loa loa (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 156 (86%) laboratoires. 141 laboratoires ont mentionné la présence des microfilaires.

L'échantillon P/9683 contenait des trophozoïtes de *Babesia species*.

Babesia species (pur ou dans un mélange avec d'autres parasites) a été identifié par 133 (73%) laboratoires. 126 laboratoires ont mentionné la présence des trophozoïtes.

Cet échantillon a déjà été envoyé lors de l'enquête 2008/1 sous le numéro P/8046. Le tableau suivant présente la comparaison des résultats des 2 enquêtes.

Tableau 2.2. Comparaison des résultats pour les échantillons P/8046 (2008/1) et P/9683 (2009/3) (*Babesia species*)

Enquête	% labos avec résultat <i>Babesia sp.</i>	% labos avec résultat <i>Babesia sp.</i> ayant répondu le stade d'évolution trophozoïte
P/8046	60.7	86.4
P/9683	73.1	92.6

2.4. Utilisation du Toolkit

Le nombre de réponses envoyé par voie informatique (Toolkit) est respectivement 47%, 56% et 66.5% 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 2009, les paramètres sérologiques pour l'hépatite B, l'hépatite C, la toxoplasmose, la borréliose, le CMV, l'EBV et le VIH ont été évalués. Le nombre de participants dépendait du paramètre.

3.1. L'hépatite B

Les deux échantillons envoyés (S/5624 et S/5632) avaient été prélevés chez des patients avec jaunisse.

Nous demandions aux laboratoires de déterminer la sérologie d'hépatite B et C sur ces échantillons et d'effectuer l'interprétation de ces 2 paramètres ensemble (cfr. 3.3. Interprétation d'hépatite B et C).

Les résultats attendus étaient:

S/5624:

HBsAg positif
HBsAc négatif
HBcAc positif
HBeAg positif
HBeAc négatif

S/5632:

HBsAg négatif
HBsAc positif
HBcAc négatif
HBeAg négatif
HBeAc négatif

Pour l'échantillon S/5624, les 177 laboratoires ont effectué 776 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs: 177 tests
- Ag HBs confirmation: 13 tests
- Ac anti-HBs: 175 tests
- Ac anti-HBc: 170 tests
- IgM anti-HBc: 10 tests
- Ag HBe: 118 tests
- Ac anti-HBe: 113 tests

1 laboratoire a effectué 1 test, 4 laboratoires 2 tests, 51 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 101 laboratoires 5 tests, 10 laboratoires 6 tests et 3 laboratoires 7 tests.

Pour l'échantillon S/5632, les 177 laboratoires ont effectué 712 tests, répartis comme suit:

- Ag HBs: 177 tests
- Ag HBs confirmation: 2 tests
- Ac anti-HBs: 175 tests
- Ac anti-HBc: 170 tests
- IgM anti-HBc: 6 tests
- Ag HBe: 94 tests
- Ac anti-HBe: 88 tests

1 laboratoire a effectué 1 test, 4 laboratoires 2 tests, 77 laboratoires 3 tests, 7 laboratoires 4 tests, 85 laboratoires 5 tests, 2 laboratoires 6 tests et 1 laboratoire 7 tests.

Les troussees les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- Ag HBs: AxSym HBsAg (Abbott) (22.6%, les 2 échantillons), Architect HBsAg (Abbott) (20.3%, les 2 échantillons), ADVIA Centaur HBsAg (Siemens) (10.2%, les 2 échantillons), Acces HBsAg (Beckman) (7.9%, les 2 échantillons), VIDAS HBsAg Ultra (bioMérieux) (7.3%, les 2 échantillons) et Modular HBsAg (Roche) (5.6%, les 2 échantillons)
- Ag HBs confirmation: Architect HBsAg Confirmatory (Abbott) (38.4%, S/5624)
- Ac Anti-HBs: AxSym AUSAB (Abbott) (21.7%, les 2 échantillons), Architect anti-HBs (Abbott) (20.0%, les 2 échantillons), ADVIA Centaur anti-HBs (Siemens) (10.3%, les 2 échantillons), VIDAS anti-HBs Total Quick (bioMérieux) (6.9%, les 2 échantillons), Acces HBsAb (Beckman) (6.3%, les 2 échantillons) et Modular anti-HBs (Roche) (6.3%, les 2 échantillons)
- Ac Anti-HBc totaux: AxSym CORE (Abbott) (22.4%, les 2 échantillons), Architect anti-HBc (Abbott) (18.2%, les 2 échantillons), VIDAS anti-HBc Total II (bioMérieux) (10.0%, les 2 échantillons) ADVIA Centaur anti-HBc Total (Siemens) (9.4%, les 2 échantillons), Acces HBcAb (Beckman) (7.6%, les 2 échantillons) et Modular anti-HBs (Roche) (6.5%, les 2 échantillons)
- Ac Anti-HBc IgM: Architect anti-HBc IgM (Abbott) (30.0%, S/5624), VIDAS HBc IgM II (bioMérieux) (respectivement 20.0% et 33.3%)
- Ag HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectivement 44.9% et 38.3%), AxSym HBe 2.0 (Abbott) (respectivement 17.8% et 19.1), Architect HBeAg (Abbott) (respectivement 15.3% et 17.0) et LIAISON HBeAg (Diasorin) (respectivement 8.5% et 9.6%)
- Ac Anti HBe: VIDAS HBe/Anti HBe (bioMérieux) (respectivement 41.6% et 34.1), AxSym anti-HBe 2.0 (Abbott) (respectivement 18.6% et 19.3%), Architect anti-HBe (Abbott) (respectivement 16.8% et 19.3%) et LIAISON anti-HBe (Diasorin) (respectivement 8.8% et 10.2%)

Nous pouvons résumer les résultats comme suit :

S/5624 : tous les participants ont trouvé l'antigène HBsAg positif (y inclus le test de confirmation, s'ils l'ont effectué); tous ont trouvé les anticorps anti-HBs négatifs ; 98.8% ont trouvé les anticorps anti-HBc totaux positifs, 90% les anticorps anti-HBc IgM négatifs; tous les participants ont trouvé l'antigène HBe positif; 98.2% ont trouvé les anticorps anti-HBe négatifs .

S/5632: 98.3% 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, l'antigène HBe négatif; 98.9% ont trouvé les anticorps anti-HBe négatifs.

3.2. L'hépatite C

Les anticorps anti-HCV devaient être déterminés sur les mêmes échantillons sur lesquels la sérologie de l'hépatite B devait être effectuée.

Les résultats attendus étaient :

S/5624:Anticorps négatifs

S/5632:Anticorps positifs

173 laboratoires belges et luxembourgeois de biologie clinique ont déterminé les anticorps anti-HCV. Un certain nombre de laboratoires ont effectué deux tests par échantillon: 6 laboratoires pour l'échantillon S/5624 et 15 laboratoires pour l'échantillon S/5632.

Les laboratoires ont effectué 178 tests ELISA et 1 test « blot » pour l'échantillon S/5624 et 180 tests ELISA, 3 tests LIA et 5 tests « blot » pour l'échantillon S/5632.

Les troupes les plus utilisées étaient: AxSym HCV 3.0 (Abbott) (24.6% et 23.9%), Architect HCV (Abbott) (20.7% et 19.7%), ADVIA Centaur HCV (Siemens) (12.3% et 11.7%), Access HCV Ab Plus sur l'appareil Unicel Dxl 800 (Biorad) (7.8% et 7.4%) et Access HCV Ab Plus sur l'appareil Access (Biorad) (7.3% et 6.9%).

Pour l'échantillon S/5624, tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif et pour l'échantillon S/5632, tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif.

3.3. Interprétation de l'hépatite B et C

Comme mentionné dans le chapitre 3.1, l'interprétation combinée des hépatites B et C devait être effectuée sur les 2 échantillons. Nous avons prévu des possibilités d'interprétation adaptées pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un de ces 2 paramètres.

Les interprétations attendues étaient:

S/5624 : « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C »

S/5632 : « Immunité vaccinale contre le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires»

Au total 166 laboratoires ont fourni une interprétation combinée pour l'échantillon S/5624 et 168 laboratoires pour l'échantillon S/5632.

Pour l'échantillon S/5624 164 (98.8%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Profil sérologique suggérant une infection causée par le virus de l'hépatite B; il n'existe aucune évidence pour une infection par le virus de l'hépatite C ». Un laboratoire a choisi une autre des interprétations proposées. Un autre laboratoire a proposé sa propre interprétation.

Pour l'échantillon S/5632 161 (95.8%) laboratoires ont choisi l'interprétation « Immunité vaccinale contre le virus de l'hépatite B; une infection par le virus de l'hépatite C doit être confirmée par des tests complémentaires ». Cinq (3.0%) laboratoires ont choisi une autre des interprétations proposées ou des combinaisons de ces propositions. Deux (1.2%) laboratoires ont proposé leurs propres interprétations.

Le commentaire concernant l'hépatite B a repris quelques définitions:

- **HBV chronique**: la **persistance d'Ag HBs sur 2 prélèvements à 6 mois d'intervalle**.
- **immunité**: présence d'anti-HBs (anticorps neutralisants). L'immunisation est **vaccinale si la présence d'anti-HBs est isolée** ; elle est liée à **une infection naturelle antérieure si les anti-HBs sont accompagnés d'anti-HBc**. Dans les 2 cas, **l'Ag HBs est négatif**.

Le commentaire a également mentionné qu'il est judicieux de réaliser la recherche des **Ag HBe, Ac anti-HBe et HBc IgM comme tests complémentaires en présence de l'Ag HBs**.

La recherche de **l'ADN viral** par PCR n'est généralement **pas nécessaire** dans le diagnostic d'une hépatite aiguë ; **elle est utile dans les hépatites chroniques lorsque la sérologie n'est pas claire** (anti-HBc isolé, hépatite chronique séronégative,...). La **détermination quantitative de l'ADN viral ou charge virale** est indiquée dans la **mise au point d'hépatite B chronique, avant l'instauration d'un traitement antiviral** et ensuite **pour suivre l'efficacité de ce traitement**.

Le commentaire concernant l'hépatite C a mentionné que même si les tests de dépistage de 3ème génération ont une sensibilité et une spécificité améliorée par rapport aux générations précédentes, il subsiste un certain pourcentage de faux positifs, en particulier dans les populations à faible prévalence et en l'absence d'un facteur de risque, d'un contexte clinique ou biologique suggestif.

Les tests de type immunoblot permettent bien sûr de vérifier la spécificité de la réactivité du test de screening, mais ils sont chers et **d'un intérêt limité comme tests de confirmation** dans des cas comme l'échantillon S/5632. En effet, **dans un contexte d'hépatite**, aiguë ou chronique, **la détection d'anticorps anti-HCV par un test de dépistage** (du moins avec résultat franchement positif) **rend le diagnostic d'hépatite C probable** et celui-ci devra être **confirmé par la recherche du génome viral** par PCR ou par

une autre technique d'amplification moléculaire. Seul ce type de test permettra de démontrer que le patient est porteur du virus.

3.4. Le toxoplasme

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés pour la détermination des anticorps anti-Toxoplasme, S/5630 et S/6974.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/5630: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

S/6974: « Prélèvement pendant le premier trimestre d'une grossesse »

Les résultats attendus étaient :

S/5630: IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps spécifiques

S/6974: IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs)

165 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse. Ils ont effectué 337 tests sur l'échantillon S/5630 et 355 tests sur l'échantillon S/6974.

Pour l'échantillon S/5630, 1 laboratoire a effectué 1 test, 158 laboratoires ont effectué 2 tests, 4 laboratoires ont effectué 3 tests et 2 laboratoires ont effectué 4 tests.

Pour l'échantillon S/6974, 1 laboratoire a effectué 1 test, 141 laboratoires ont effectué 2 tests, 20 laboratoires ont effectué 3 tests et 3 laboratoires ont effectué 4 tests.

Le tableau ci-dessous présente le nombre des tests effectués par échantillon en fonction du nombre de laboratoires.

Tableau 3.4.1. Nombre de participants répartis par paramètre pour le Toxoplasme (enquête 2009/2)

Nombre de tests	Types de tests	S/5630	S/6974
1 test	IgM	1	1
2 tests	IgG + IgM	158	141
3 tests	IgA + IgG + IgM	2	1
	IgG + IgG + IgM	1	-
	IgG + IgM + IgM	1	1
	IgG + IgM + avidité	-	18
4 tests	IgG + IgG + IgM + IgM	2	2
	IgA + IgG + IgM + avidité	-	1
Total		165	165

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: AxSym Toxo IgG (Abbott) (28.7% et 28.9), Liaison Toxo IgG (DiaSorin) (14.4% et 14.5%), VIDAS Toxo IgG II (bioMérieux) (13.8% et 13.3%), Advia Centaur Toxo IgG (Siemens) (9.0% les 2 échantillons)
- IgM (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): AxSym Toxo IgM (Abbott) (32.7%), Liaison Toxo IgM (DiaSorin) (14.3%), VIDAS Toxo IgM (bioMérieux) (12.5%), Advia Centaur Toxo IgM (Siemens) (8.9%)
- IgG avidité (échantillon M/6974): VIDAS Toxo IgG avidity (bioMérieux) (78.9%)

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgG pour l'échantillon S/5630. 164 laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les IgM; un laboratoire a obtenu un résultat positif pour les IgM (probablement une faute en recopiant les résultats où les IgM de

l'échantillon S/5630 et les IgG de l'échantillon S/6974 ont été intervertis; l'interprétation de ce laboratoire était correcte). Les 2 laboratoires ayant dosé les IgA, les ont trouvées négatives. 161 (97.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Absence d'anticorps spécifiques ». Deux laboratoires ont choisi « La sérologie ne permet pas d'exclure ni de confirmer une infection; à confirmer par un échantillon de suivi ». Un laboratoire a combiné ces 2 interprétations. Un laboratoire qui a déterminé uniquement les IgM, a préféré de ne pas donner d'interprétation.

159 laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les IgG pour l'échantillon S/6974, 2 laboratoires ont obtenu un résultat borderline et 3 un résultat négatif (1 de ces 3 est le laboratoire mentionné ci-dessous; les 2 autres ont probablement coché la mauvaise case sur le formulaire de réponse: leur résultats quantitatifs plaident clairement pour un résultat positif). Tous les résultats des IgM et IgA étaient négatifs. Dix-huit laboratoires ont obtenu une avidité élevée; un laboratoire une avidité borderline.

161 (97.6%) laboratoires ont fourni l'interprétation correcte « Présence d'anticorps suggestive d'un contact ancien (anticorps protecteurs) ». Un laboratoire a choisi « La sérologie ne permet pas d'exclure ni de confirmer une infection; à confirmer par un échantillon de suivi ». Un laboratoire a combiné ces 2 interprétations. Deux laboratoires, dont le laboratoire qui a déterminé uniquement les IgM, ont préféré de ne pas donner d'interprétation.

Le commentaire a mentionné que, vu le profil sérologique, la détermination des IgA et/ou de l'avidité des IgG n'étaient pas nécessaires et n'a donné aucune information complémentaire. On peut supposer que ces analyses ont été effectuées uniquement parce qu'il s'agissait du contrôle de qualité et qu'en routine elles ne le seraient pas.

Le commentaire a également analysé de plus près les 2 résultats borderline positifs pour les IgG. Les valeurs qui ont été mentionnées par ces 2 labos (respectivement 40 et 57.6 IU) plaident cependant plutôt pour un résultat positif. Ces laboratoires devraient donc contrôler leurs valeurs d'interprétation.

Quelques laboratoires ont demandé un second échantillon afin d'exclure avec certitude une infection récente précoce. Bien que ceci ne soit pas à proprement parler fautif, nous devons quand même **éviter de demander trop d'échantillons de contrôle en cas de sérologies banales** (surtout dans le cadre d'un dépistage au cours de la grossesse).

Pour finir le commentaire a remarqué qu'à nouveau il existait un certain manque de soin dans les réponses. Il s'agit d'un phénomène qui se répète et est probablement dû à la manière particulière de répondre au contrôle de qualité.

3.5. La borreliose

2 échantillons ont été envoyés pour effectuer la sérologie de la borreliose.

Les échantillons étaient accompagnés des informations cliniques suivantes:

S/1196: « Douleurs articulaires chez un garde forestier. »

S/1360: « Un homme de 30 ans se promène souvent dans les bois. Au retour d'une de ses promenades, il remarque une tique, qu'il enlève. Après 2 semaines, il se plaint de douleur et de perte de sensibilité dans son bras gauche. On décide d'effectuer un prélèvement de sang. »

Les résultats attendus étaient :

S/1196: IgG négatif

IgM négatif

Interprétation: Absence d'anticorps

S/1360: IgG positif

IgM négatif

Interprétation: Présence d'anticorps

137 laboratoires ont renvoyé le formulaire de réponse.

Ils ont effectué 231 tests sur l'échantillon S/1196 et 257 tests sur l'échantillon S/1360.

La distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées est présentée dans le tableau 3.5.1.

Tableau 3.5.1. Distribution des tests utilisés en fonction des techniques utilisées pour l'enquête 2009/2.

Nombre de tests	Type de trousse	Type de technique	S/1196	S/1360
1 test	Ac. tot.	générale	45	41
		anti-C6	8	6
2 tests	IgG et IgM	nonblot – nonblot	76	64
3 tests	Ac. tot. et IgG et IgM	générale – nonblot – nonblot	4	4
		générale – blot – blot	-	4
		antiC6 – nonblot – nonblot	1	1
		antiC6 – blot – blot	1	3
		IgG et IgG et IgM	nonblot – blot – nonblot	-
4 tests	IgG et IgG et IgM et IgM	nonblot – blot – nonblot – blot	1	3
		nonblot – nonblot – nonblot – nonblot	1	1
Total			137	137

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps totaux (le même pourcentage d'utilisateurs pour les 2 échantillons): VIDAS Lyme (bioMérieux) (79.7%), C6 B. burgdorferi (Lyme) ELISA (Immunetics) (16.9%)
- IgG: Liaison Borrelia IgG (Diasorin) (55.8% et 46.2%), Borrelia Plus VLsE Elisa IgG (Euroimmun) (24.4% et 20.2%), Enzygnost Lyme link VLsE IgG (Dade Behring) (10.5% et 8.7%), Euroline WB IgG (Euroimmun) (échantillon S/1360: 14.4%)
- IgM: Liaison Borrelia IgM II (Diasorin) (54.7% et 50.0%), Anti-Borrelia Elisa (IgM) (Euroimmun) (24.4% et 22.3%), Enzygnost Borreliosis IgM (Dade Behring) (10.5% et 9.6%), Euroline WB Borrelia IgM (Euroimmun) (échantillon S/1360: 9.6%)

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux et pour les IgG pour l'échantillon S/1196 ; pour les IgM, tous les laboratoires, sauf 1 (qui a obtenu un résultat positif) ont également obtenu un résultat négatif.

136 (99.3%) laboratoires ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia » ; le laboratoire, qui a obtenu un résultat positif pour les IgM a choisi l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. »

Deux laboratoires ayant déterminé les anticorps « généraux » (polyvalents) ont obtenu un résultat positif pour l'échantillon S/1360, trois un résultat négatif et 44 un résultat borderline. Tous les résultats négatifs et borderline ont été obtenus avec la trousse VIDAS Lyme IgG + IgM de bioMérieux.

La firme a été contactée à ce sujet; vous trouvez ci-dessous les résultats de leur enquête et leur commentaire:

Analyse de l'échantillon au laboratoire de QC-labo de bioMérieux à Lyon :

- résultats de l'échantillon avec 2 lots Vidas Lyme :

- o lot 090929-0 : Test Value = 0.77 = douteux
- o lot 100313-0 : Test Value = 0.79 = douteux

- Western Blot:

- o positif pour B. garinii Immunoblot G et négatif pour Immunoblot M
- o test sur 4 lots Vidas Lyme (avec différents lots d'antigènes) : résultats douteux et reproductibles quel que soit le lot.

Commentaire de notre centre de référence Lyme (Dr Peter – Suisse) :

- Les résultats obtenus en Immunoblot correspondent à une cicatrice sérologique car présence en Immunoblot IgG de l'OspA et Immunoblot IgM négatif. De par son expérience et sa connaissance du test Vidas LYT, le Dr Peter considère que le test Vidas LYT se positive très rapidement lors d'infections récentes et actives (très bonne sensibilité en IgM), bonne sensibilité également de Vidas LYT vis à vis des infections actives chroniques.

- Il a noté que le test Vidas LYT se négative plus rapidement que d'autres tests vis à vis des infections anciennes sans symptômes (cas des cicatrices sérologiques) ce qui ne pose pas de difficulté pour le Dr Peter car il conseille de faire un suivi 3 à 4 semaines plus tard.

- Si 3 à 4 semaines plus tard il n'observe pas d'évolution de l'immunoblot évoquant une infection ancienne, il conclut à une infection ancienne non active.

Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les anticorps anti-C6 pour l'échantillon S/1360.

Pour les tests « non-blot » des IgG, 82 (98.8%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et un laboratoire a obtenu un résultat borderline. Tous les laboratoires ont obtenu un résultat positif pour les tests « blot ».

Pour les tests « non-blot » des IgM, 82 (98.8%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif et un laboratoire a obtenu un résultat positif. Tous les laboratoires ont obtenu un résultat négatif pour les tests « blot ».

98 (71.5%) laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia »; 6 (4.4%) laboratoires ont donné l'interprétation « Présence d'anticorps anti-Borrelia. Le résultat sérologique n'était pas le diagnostic de borréliose de Lyme si les plaintes existent depuis plus de 6 semaines. » 30 (21.9%) laboratoires ont préféré leur propre interprétation qui comprenait la notion de présence d'anticorps mais où cette réponse était transmise avec des nuances. Deux (1.5%) laboratoires (qui avaient tous les 2 obtenu un résultat négatif pour les anticorps totaux) ont donné l'interprétation « Absence d'anticorps anti-Borrelia ». Un laboratoire a laissé ouverte l'interprétation.

Le commentaire sur l'enquête a accentué que l'échantillon S/1196 ne posait pas de problèmes. Pour l'échantillon S/1360 la réponse correcte était: « Présence d'anticorps ». Mais il est important de remarquer que ce résultat sérologique positif n'était pas le diagnostic d'infection récente. En cas de suspicion clinique persistante de borréliose de Lyme, l'analyse d'un sérum de suivi est conseillée. Nous devons ajouter la remarque que l'analyse d'un deuxième sérum a moins de sens si le clinicien décide de commencer un traitement antibiotique. Dans ce cas, la réponse au traitement doit être évaluée cliniquement. L'absence de réponse sérologique n'exclut pas le diagnostic car le traitement antibiotique dans une phase précoce peut avoir comme effet qu'il n'y ait plus de production supplémentaire d'anticorps.

En ce qui concerne **la nécessité de la confirmation d'un résultat positif** obtenu avec un test de screening, **il n'est pas nécessaire que ce test de screening soit toujours suivi d'une analyse par immunoblot**. La directive Néerlandaise CBO donne les recommandations suivantes: chez les **patients avec une très grande probabilité clinique de borréliose de Lyme**, une **confirmation par immunoblot** d'un résultat positif par ELISA ou IFA de 1^e ou 2^e génération **n'est pas nécessaire** étant donné que la valeur prédictive positive d'un résultat (positif) d'un ELISA ou d'un IFA est très élevée dans ces cas. Si on obtient un résultat positif en ELISA ou en IFA chez des **patients avec une probabilité faible ou modérée de borréliose de Lyme** et qui ont des **plaintes présentes depuis longtemps (>8 semaines)**, la directive conseille de les **confirmer par western blot**. Un résultat de blot négatif exclut une borréliose de Lyme.

Pour terminer nous voulons remarquer une fois de plus qu'**un blot positif ne démontre pas que les plaintes soient causées par la borréliose de Lyme. Le diagnostic reste en premier lieu un diagnostic clinique.**

3.6. Le CMV

Un échantillon (S/9685) a été envoyé pour effectuer la sérologie de CMV et EBV. Les laboratoires avec un numéro d'agrément pair ou impair ont reçu un échantillon différent sous ce même numéro.

L'échantillon était accompagné des informations cliniques suivantes:

« Femme en âge de procréation, ayant consultée pour un syndrome grippal accompagné de myalgies, de fièvre et de malaise généralisée. L'échantillon soumis au Q.C. a été prélevé un mois après le début des manifestations cliniques.»

Nous avons demandé d'effectuer une interprétation combinée des résultats de CMV et EBV ; (cfr. 3.8. Interprétation de CMV et EBV).

Les résultats attendus pour le CMV étaient :

Laboratoires pairs: IgG positif
 IgM positif
Laboratoires impairs: IgG positif
 IgM positif

168 laboratoires ont participé à cette enquête.

Les 96 laboratoires pairs ont effectué 257 tests. Les 72 laboratoires impairs ont effectué 179 tests.

Un aperçu du nombre et type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 3.6.1.

Tableau 3.6.1. Nombre de participants répartis par paramètre

Nombre de tests	Type test	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs
1 test	IgG	-	1
2 tests	IgG + IgM	37	39
	IgG + Ac. totaux	-	1
3 tests	IgG + IgM + avidité	51	24
	IgG + IgM + IgM	2	2
4 tests	IgG + IgM + IgM + avidité	4	4
	IgG + IgG + IgM + avidité	-	1
	IgG + IgG + IgM + IgM	2	-
Total		96	72

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- IgG: VIDAS CMV IgG (bioMérieux) (24.6%), Liaison CMV IgG (Diasorin) (19.9%), AxSYM CMV IgG (Abbott) (18.7%) et Architect CMV IgG (Abbott) (18.1%)
- IgM: VIDAS CMV IgM (bioMérieux) (30.6%), Liaison CMV IgM (Diasorin) (20.0%), Architect CMV IgM (Abbott) (16.7%) et AxSYM CMV IgM (Abbott) (12.2%)
- avidité: VIDAS CMV IgG avidity (bioMérieux) (71.4 %) et Liaison CMV IgG avidity (Diasorin) (19.0%)

Tous les laboratoires pairs ont obtenu un résultat positif pour les IgG et les IgM. 44 (80%) laboratoires ont obtenu une avidité faible, 10 (18.2%) laboratoires une avidité intermédiaire et 1 (1.8%) laboratoire a répondu « élevé » (avec comme résultat quantitatif: ratio = 9).

Tous les laboratoires impairs ont obtenu un résultat positif pour les IgG et les IgM. 28 (96.6%) laboratoires ont obtenu une avidité faible et 1 (3.4%) laboratoire a répondu « élevé » (avec comme résultat quantitatif: index = 1.05).

3.7. L'EBV

La sérologie de l'EBV devait être effectuée sur le même échantillon sur laquelle la sérologie du CMV devait être effectuée.

Les résultats attendus pour l'EBV étaient :

Laboratoires pairs: IgG positif
IgM négatif
Laboratoires impairs: IgG positif
IgM positif

158 laboratoires ont participé à cette enquête.

Les 92 laboratoires pairs ont effectué 285 tests. Les 66 laboratoires impairs ont effectué 205 tests.

Un aperçu du nombre et du type de déterminations par laboratoire est présenté dans le tableau 3.7.1.

Tableau 3.7.1. Combinaisons des tests effectués par les participants

Nombre de tests	Paramètre	Laboratoires pairs	Laboratoires impairs
1 test	Ac. hétérophiles	4	1
	EBNA IgG	1	1
2 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgM	1	-
	VCA IgG + VCA IgM	13	12
	VCA-EA IgG + VCA IgM	2	-
	EBNA IgG + VCA IgM	1	3
	IgG totaux + IgM totaux	1	2
3 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM	14	7
	Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM	2	2
	Ac. hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux	6	3
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + VCA IgM	2	6
	Ac. hétérophiles + EBNA IgG + EA IgM	1	1
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	8	4
	VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	3	2
	IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	-
4 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	17	12
	Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + VCA IgM + EBNA IgG	2	2
	Ac. hétérophiles + IgG totaux + IgM totaux + EBNA IgG	1	1
	Ac. hétérophiles + VCA IgG + 2 VCA IgM	-	1
	Ac. hétérophiles + VCA-EA IgG + 2 VCA IgM	1	-
	2 Ac. hétérophiles + VCA IgM + EBNA IgG	1	-
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	4	-
	VCA-EA IgG + VCA IgG + 2 VCA IgM	1	-
5 tests	Ac. hétérophiles + VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG	3	6
	VCA IgG + VCA IgM + EBNA IgG + EA IgG + EA IgM	1	-
	IgG totaux + IgM totaux + VCA IgG + EBNA IgG + EA IgG	1	-
Total		92	66

Les trousse les plus utilisées pour les différents paramètres sont:

- anticorps hétérophiles: Clearview IM (Inverness medical) (50%) et Monogen (Biokit) (10.2%)
- IgG totaux: Enzygnost anti-EBV IgG (Siemens) (100.0%)
- VCA-EA IgG: VIDAS EBV VCA-EA IgG (bioMérieux) (100.0%)
- VCA IgG: Liaison VCA IgG (Diasorin) (47.1%) et Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgG Elisa (Euroimmun) (16.3%)
- EBNA IgG: Liaison EBNA IgG (Diasorin) (41.2%), VIDAS EBV EBNA IgG (bioMérieux) (16.5%) et Epstein Barr virus nuclear antigen (EBNA-1) IgG Elisa (Euroimmun) (10.6%)
- EA IgG: Liaison EA IgG (Diasorin) (73.3%)

- VCA IgM: Liaison VCA IgM (Diasorin) (36.8%), Epstein Barr virus capsid antigen (EBV-CA) IgM Elisa (Euroimmun) (14.7%) et VIDAS EBV VCA IgM (bioMérieux) (13.2%)

Tous les laboratoires pairs ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps hétérophiles et les EA IgG. Tous les laboratoires pairs ont obtenu un résultat positif pour les IgG totaux, les VCA-EA IgG et les VCA IgG. Pour les EBNA IgG 45 (95.7%) laboratoires ont obtenu un résultat positif et 2 (4.3%) un résultat négatif. Tous les laboratoires pairs ont obtenu un résultat négatif pour les IgM totaux. Pour les VCA IgM 60 (78.9%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif 3 (3.9%) laboratoires un résultat borderline et 12 (15.8%) laboratoires un résultat positif; un laboratoire a obtenu des résultats différents (négatif et positif) avec les 2 techniques qu'il a utilisées.

41 laboratoires impairs ont obtenu un résultat négatif pour les anticorps hétérophiles; un laboratoire un résultat borderline. Tous les laboratoires pairs ont obtenu un résultat positif pour les IgG totaux, les VCA-EA IgG, les VCA IgG et les EBNA IgG. Pour les EA IgG trois laboratoires ont obtenu un résultat positif, deux un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif. Tous les laboratoires impairs ont obtenu un négatif pour les IgM totaux. Pour les VCA IgM 27 (46.6%) laboratoires ont obtenu un résultat négatif, 5 (8.6%) laboratoires un résultat borderline et 25 (43.1%) laboratoires un résultat positif; un laboratoire a obtenu des résultats différents (négatif et positif) avec les 2 techniques qu'il a utilisées.

Le commentaire concernant l'enquête a souligné que pour la détection des VCA-IgM, il existe un nombre important de kits qui sont soit un peu plus ou soit un peu moins sensibles aux réactivations/réinfections, mais cliniquement cela n'induit pas des grands problèmes. En plus ces trousse sont plus sensibles aux réactions croisées chez certaines firmes que chez d'autres (et donc la spécificité manque parfois). Ces IgM VCA "aspécifiques" pourraient éventuellement influencer l'interprétation, mais en insistant sur les anticorps EBNA-1 IgG dans la conclusion finale cette présence des VCA-IgM ne devrait pas avoir trop d'influence sur l'exactitude de l'interprétation.

3.8. Interprétation de CMV et EBV

Comme mentionné dans le chapitre 3.6, l'interprétation combinée CMV et EBV devait être effectuée. Nous avons prévu des possibilités d'interprétation adaptées pour les laboratoires qui n'effectuent qu'un de ces 2 paramètres.

L'interprétation attendue était pour les 2 groupes de laboratoires:

« Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. »

Des variantes à cette interprétation qui contenaient la confirmation ou l'exclusion des 2 paramètres ou d'un des 2 étaient acceptables.

151 laboratoires (89 pairs et 62 impairs) ont renvoyé une interprétation **combinée pour les 2 paramètres**.

Pour les laboratoires pairs nous avons reçu les réponses suivantes:

- 57 (64%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. »
- 22 (24.7%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire »
- 5 (5.6%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire »
- 3 (3.4%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction »
- 1 (1.1%) laboratoire: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV et sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire »
- 1 (1.1%) laboratoire: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV; sérologie négative pour EBV »

Pour les laboratoires impairs nous avons reçu les réponses suivantes:

- 31 (50%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et d'une infection ancienne par EBV. »
- 2 (3.2%) laboratoires ont fourni leur propre variante à cette interprétation
- 16 (25.8%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV ; sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire »
- 7 (11.3%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et sérologie positive dans l'essai IgM pour EBV; afin d'exclure une infection primaire par EBV une confirmation est nécessaire »
- 1 (1.1%) laboratoire a fourni sa propre variante à cette interprétation
- 3 (4.8%) laboratoires: « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV et/ou sérologie suggestive d'une infection primaire par EBV ; des examens complémentaires sont nécessaires pour faire la distinction »
- 1 (1.1%) laboratoire a fourni sa propre variante à cette interprétation
- 1 (1.1%) laboratoire: « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par CMV et d'une infection ancienne par EBV »

16 laboratoires (8 pairs et 8 impairs) ont renvoyé leur interprétation pour le **CMV**

Pour les laboratoires pairs nous avons reçu les réponses suivantes:

- 5 (62.5%) laboratoires: « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire. »
- 2 (25%) laboratoires : « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV »
- 1 (12.5%) laboratoire : « Est considéré comme donneur CMV-positif dans le contexte d'une banque de sang »

Pour les laboratoires impairs nous avons reçu les réponses suivantes:

- 4 (50%) laboratoires: « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV; afin d'exclure une infection primaire par CMV une confirmation est nécessaire. »
- 2 (25%) laboratoires : « Sérologie suggestive d'une infection primaire par CMV »
- 1 (12.5%) laboratoire : « Sérologie positive dans l'essai IgM pour CMV »
- 1 (12.5%) laboratoire : « Pas de résultat IgM -> interprétation impossible »

Un laboratoire (impair) a renvoyé son interprétation pour l'**EBV** : « Sérologie suggestive d'une infection ancienne par EBV »

Le commentaire a repris le tableau suivant, qui permet une interprétation facile et simple de la sérologie de l'EBV:

Tableau 3.8.1. Interpretation of EBV-specific serological profiles for diagnosis

Atypical lymphocytes	Heterophile antibodies	VCA IgG	VCA IgM	EBNA-1 IgG	Interpretation
-	-	-	-	-	No infection
+/-	+/-	+	+	-	Acute infection
-	-	+	-	+	Past infection
-	-	+	+	+	Past infection most probable
+/-	+/-	+	-	-	Past infection **
-	-	-	+	-	Undetermined*
-	-	-	-	+	Impossible***

* Follow-up serum necessary to evidence seroconversion IgG (early phase infection)

** Additional testing could be useful in specific circumstances, e.g. VCA-IgG avidity testing, Western blotting, or PCR

*** Exceptionally when used in combination with an insensitive VCA-IgG test

En ce qui concerne l'interprétation de la sérologie du CMV le commentaire a mentionné que le diagnostic d'une infection primaire par CMV est 100% clair et certain en cas d'une séroconversion vis-à-vis du CMV. Les IgM anti-CMV sont un bon indicateur d'une infection aiguë ou récente mais ne sont pas toujours corrélés à une infection primaire. On peut produire des IgM pendant des réactivations ou des réinfections. En outre les IgM peuvent être retrouvés chez certaines personnes 6 à 9 mois après la fin de la phase aiguë d'une infection primaire, les résultats faux positifs sont fréquents et peuvent surgir chez des personnes souffrant d'autres infections virales (parvovirus B19, EBV,...).

Le test d'avidité anti-CMV IgG est à ce jour la procédure sérologique la plus fiable pour exclure une infection primaire des dernières 12 semaines avant la prise du prélèvement (en cas d'une avidité élevée). Les anticorps produits lors de la première réponse immunitaire possèdent une avidité pour l'antigène beaucoup plus faible que celle des anticorps produits plus tard. **Un avidité faible** n'est pas nécessairement liée à une infection récente et est donc **non-contributive**.

La conclusion final du commentaire était que **le profil sérologique** est toujours à **interpréter en considérant tous les paramètres obtenus ensemble** afin d'obtenir une conclusion finale, et donc on ne devrait **jamais se fixer sur un paramètre isolé**. Un aspect important de cette EEQ est le **rôle du biologiste clinique dans la limitation de la surconsommation** (où **certains tests**, parfois plus couteux, devraient être **limités à des groupes de risque spécifiques**) et le **rôle de conseiller qu'il peut avoir vis-à-vis du demandeur concernant une interprétation adéquate**. Les tests d'avidité par exemple doivent être réservés pour les femmes enceintes et les patients à haut risque chez qui une infection aiguë peut avoir des conséquences négatives, par exemple les patients cancéreux avant le début de la chimiothérapie d'induction.

3.9. Le VIH

Deux plasmas liquides ont été envoyés, S/5621 et S/7743.

L'échantillon S/5621 était négatif et l'échantillon S/7743 était positif pour les anticorps anti-VIH.

178 laboratoires belges et Luxembourgeois ont participé à cette enquête.

Les laboratoires ont effectué 193 tests de dépistage sur l'échantillon S/5621: 163 laboratoires ont effectué 1 test et 15 laboratoires 2 tests. En outre 7 laboratoires ont rapporté le résultat de la détermination de l'Ag p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et 1 laboratoire le résultat qu'il a obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO QUICK. Un laboratoire a utilisé la trousse VIDAS HIV p24 II et 2 laboratoires ont effectués des tests de confirmation : 1 à l'aide de la trousse Inno-LIA HIV Confirmation et 1 à l'aide de la trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT

Les laboratoires ont effectué 201 tests de dépistage sur l'échantillon S/7743: 155 laboratoires ont effectué 1 test et 23 laboratoires 2 tests. En outre 6 laboratoires ont répondu le résultat de l'antigène p24 qu'ils ont obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et 1 laboratoire le résultat qu'il a obtenu avec la trousse VIDAS HIV DUO QUICK. 3 laboratoires ont déterminé l'Ag p24 sur cet échantillon avec la trousse VIDAS HIV p24 II et 1 laboratoire avec la trousse Murex HIV Ag Mab kit; 2 laboratoires ont effectué un test de confirmation avec la trousse GENELABS HIV 2.2 BLOT et 3 avec la trousse Inno-LIA HIV Confirmation.

Les réactifs les plus utilisés sont Architect HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (20.2% et 19.4% pour les 2 échantillons), AxSYM HIV Ag/Ab Combo (Abbott) (16.6% et 15.9% pour les 2 échantillons), HIV Combi 2nd Generation (Roche) (10.9% et 10.4% pour les 2 échantillons) ADVIA Centaur EHIV (Siemens) (9.8% et 9.5% pour les 2 échantillons) et VIDAS HIV DUO ULTRA (bioMérieux) (9.3% et 10.9% pour les 2 échantillons).

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/5621 : il a été considéré négatif par 177 laboratoires (99.4%). Un laboratoire a coché la case "positif" (ce laboratoire a cependant obtenu comme résultat quantitatif une indice de 0.36). Ce laboratoire est le seul qui en routine enverrait l'échantillon à un centre de référence.

L'antigène p24 a été trouvé négatif par tous les laboratoires répondant le résultat de cette analyse.

Les résultats des tests de dépistage pour l'échantillon S/7743: 176 (98.9%) laboratoires ont obtenu un résultat positif avec les tests de dépistage. Un laboratoire a obtenu un résultat borderline et un laboratoire un résultat négatif

Les laboratoires ayant rapporté le résultat de l'Ag p24 des trousse VIDAS HIV DUO ULTRA et VIDAS HIV DUO QUICK, ont fourni le résultat « ND » « Non Déterminé »; **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 ; le résultat de la trousse Murex HIV Ag Mab était également négatif.

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

172 laboratoires enverraient l'échantillon en routine au centre de référence; les 6 laboratoires qui ne l'enverraient pas, sont les laboratoires ayant effectué les tests de confirmation ou ont mentionné être un LRS eux-mêmes. Le commentaire de l'enquête a souligné que ceci est la bonne procédure.

Après un résultat positif confirmé, il est **impératif** de prélever **un second échantillon** du même patient, afin d'éviter toute confusion due à des erreurs administratives ou d'échantillonnage. Un résultat positif est en effet très important pour la personne, puisque au-delà de 18 mois (anticorps passifs) il signe une infection par le VIH.

Le **laboratoire de référence** considère une **personne** comme **positive si deux échantillons** ont été analysés avec **le même résultat positif**. Il accompagne sa réponse d'une demande de **renseignements épidémiologiques**. Leur collecte fait partie intégrante des obligations des laboratoires de référence SIDA. Ces données sont indispensables pour pouvoir suivre l'évolution de l'épidémie dans notre pays. Les résultats codés non nominatifs sont analysés par un secrétariat commun et seule l'analyse globale est disponible pour les autorités et le public.